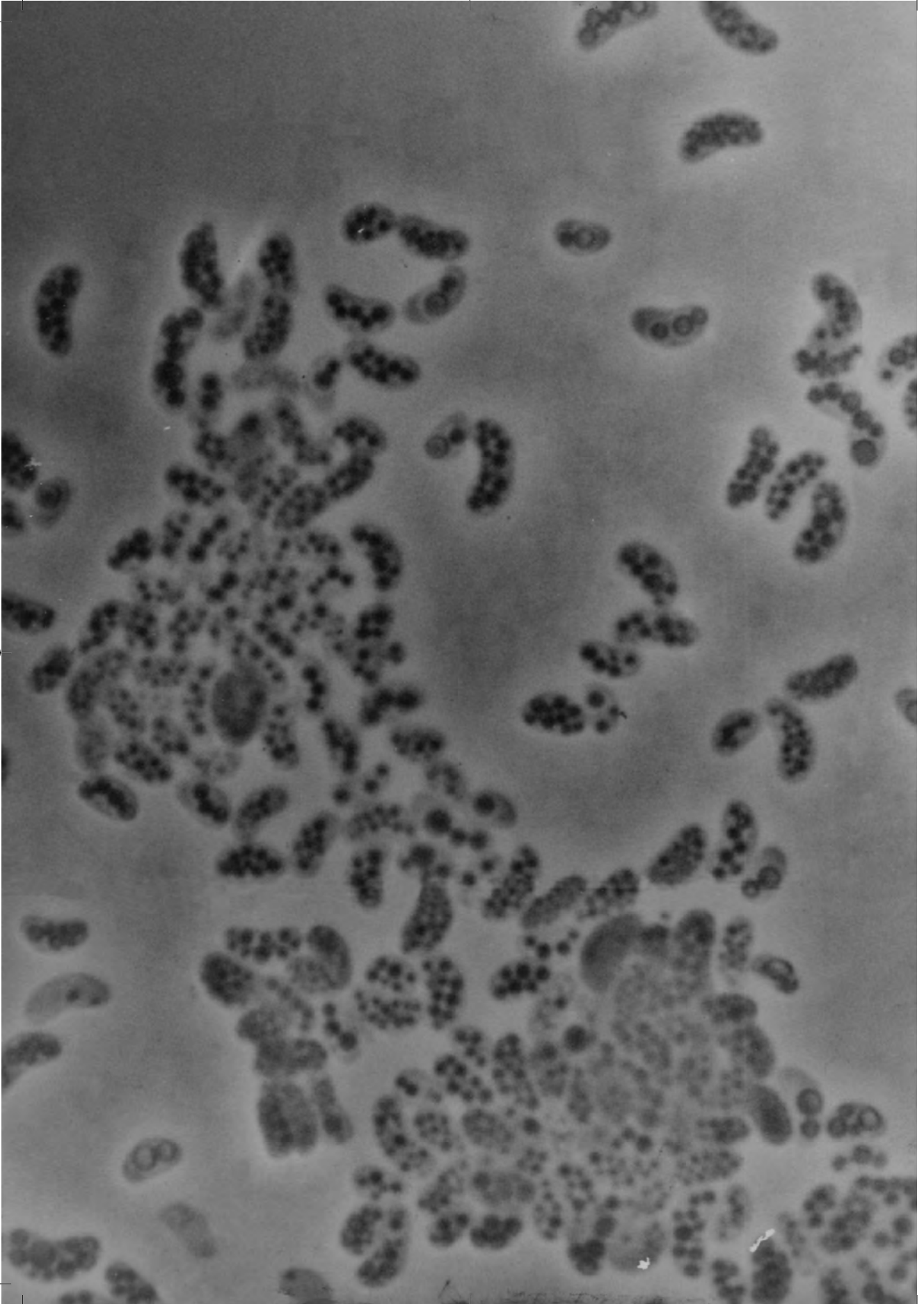


Microbiologia e Bioquímica do Solo



Fátima M. S. Moreira
José Oswaldo Siqueira

Microbiologia e Bioquímica do Solo

2ª edição atualizada e ampliada



© 2002 by Fátima M. S. Moreira e José Oswaldo Siqueira
2006-2ª edição atualizada e ampliada

Nenhuma publicação pode ser reproduzida, por qualquer meio ou forma, sem a autorização
escrita e prévia dos detentores do copyright.

Direitos de publicação reservados à Editora UFLA

Universidade Federal de Lavras

REITOR: Antonio Nazareno G. Mendes

VICE-REITOR: Ricardo Reis Pereira



EDITORA UFLA
Campus Histórico da UFLA – Caixa Postal 37
CEP 37200-000 – Lavras - MG
Tel/Fax: (35) 3829 1115 / 3829-1532
e-mail: editora@ufla.br / home-page: www.editora.ufla.br

DIRETORIA EXECUTIVA: Marco Antônio Rezende Alvarenga (Diretor), Nilton Nagib J. Chalfun e Luiz Roberto Guimarães Guilherme

CONSELHO EDITORIAL: Marco Antônio Rezende Alvarenga (Presidente), Cláudia Maria Ribeiro, Luiz Roberto Guimarães Guilherme,
Luiz Carlos de Oliveira Lima, Nilton Nagib J. Chalfun, Renato Paiva e Rilke Jaden Fonseca de Freitas

MARKETING E COMERCIALIZAÇÃO: Maria Aparecida Torres Florentino

REVISÃO DE TEXTO: Ligia Abramides Testa

CAPA: Julio Moreira e Miriam Lerner • PROJETO GRÁFICO: Alejandro • EDITORAÇÃO ELETRÔNICA: Miriam Lerner
• ASSISTENTE DE EDITORAÇÃO ELETRÔNICA: Cláudio R. F. S. Soares

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

631.46

M835m Moreira, Fátima Maria de Souza

Microbiologia e Bioquímica do Solo / Fátima Maria de Souza

Moreira, José Oswaldo Siqueira. — 2. ed. atual. e ampl. — Lavras :

Editora UFLA, 2006.

729 p. : il.

Bibliografia.

ISBN: 85-87692-33-x

1. Biota do solo. 2. Bioquímica do solo. 3. Ecologia microbiana. 4. Processos biológicos.
5. Xenobióticos. 6. Rizosfera. 7. Decomposição. 8. Ciclagem. 9. Fixação biológica de Nitrogênio.
10. Micorrizas. I. Siqueira, J. O. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

Dedicamos este livro aos nossos pais, companheiro, esposa, filhas e filhos, irmãs e irmãos, e demais familiares, pelo carinho e apoio e, à memória daqueles que nos iniciaram na Microbiologia do Solo:
Dra. Johanna Döbereiner e Dr. David. H. Hubbell.

VI

Fotos da capa:

Topo: raízes de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], com nódulos formados pela estirpe de *Bradyrhizobium* sp. UFLA 3-84, recomendada como inoculante para a espécie.

Centro da esquerda para a direita: Fotomicrografia em microscópio eletrônico de transmissão de células da bactéria fixadora de nitrogênio *Azospirillum amazonense*, em fissão binária, crescendo em meio sacarose com nitrogênio combinado, com detalhes de grânulos de poliβhidroxibutirato no interior da células, que ficam menores nesta condição; Fotomicrografia em microscópio eletrônico de varredura de tubo germinativo de esporo de fungo micorrízico germinado "in vitro"; Fotomicrografia em microscópio ótico de esporo de fungo fitossimbiótico Glomeromycota com hifa de sustentação bulbosa na rizosfera.

Foto da lombada:

Fotomicrografia em microscópio eletrônico de varredura de células auxiliares em hifa, do fungo micorrízico *Gigaspora margarita*.

Fotos da contracapa:

Topo: raízes de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], com nódulos formados pela estirpe de *Bradyrhizobium* sp. UFLA 3-84, recomendada como inoculante para a espécie.

Centro da esquerda para a direita: Fotomicrografia em microscópio ótico de esporos de *Glomus* e micélio extrarradicular em gramínea; Nódulo com aproximadamente 7 cm formado por bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium*, coletado de raízes da espécie arbórea *Swartzia schomburgkii* em floresta na Amazônia; Fotomicrografia em microscópio eletrônico de transmissão de célula da bactéria fixadora de nitrogênio *Azospirillum amazonense*, em meio sacarose sem nitrogênio combinado fixando N₂, com detalhe de grânulos de poliβhidroxibutirato no interior da célula, que ficam maiores nesta condição;

Foto da segunda página:

Fotomicrografia em microscópio ótico com contraste de fase de células da bactéria fixadora de nitrogênio *Azospirillum lipoferum* fixando N₂ em meio semi-sólido com glicose, mostrando detalhes de grânulos de poliβhidroxibutirato no interior da células.

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos aqueles que, das mais diversas formas, contribuíram para que esta obra fosse concretizada: ao apoio às nossas atividades de docência e pesquisa das agências de fomento à Ciência e Tecnologia e Formação de Recursos Humanos, particularmente CNPq, CAPES, FAPEMIG, FINEP e GEF/UNEP e, às empresas privadas com as quais temos mantido frutíferos projetos cooperativos nos últimos anos, como a Companhia Energética de Minas Gerais, Companhia Mineira de Metais, Alcoa e Rhodia-Ster; aos estudantes da disciplina de Microbiologia e Bioquímica do Solo; aos nossos orientados e aos colegas da UFLA, pelo convívio, estímulo e suporte durante a preparação do texto e aos nossos familiares e amigos que têm estado incondicionalmente sempre a nosso lado. Nesta edição, extendemos nossos agradecimentos àqueles que nos forneceram críticas e sugestões e em especial ao prof. doutor Eurípedes Malavolta.

Simbiose entre a terra e a espécie humana

“Relações simbióticas significam parcerias criativas. A Terra não pode ser vista nem como um ecossistema a ser preservado inalterado nem como um canteiro para ser explorado por razões egoístas e econômicas de curto prazo, mas como um jardim a ser cultivado para o desenvolvimento das próprias potencialidades da aventura humana. O objetivo desta relação não é a manutenção do “*status quo*” mas a emergência de novos fenômenos e de novos valores”.

René Dubos (1901-1982), Bacteriologista.

Prefácio

Embora a Microbiologia do Solo seja uma das mais antigas disciplinas de suporte à agricultura e a importância dos microrganismos e de seus processos para o funcionamento dos ecossistemas ser amplamente reconhecida, esta, não tem recebido a merecida atenção no desenvolvimento da agricultura moderna. Isto decorre, principalmente de avanços em outras especialidades da Agrotecnologia, que permitiram desenvolver sistemas de alta produtividade através do melhoramento genético das culturas, do uso dos agroquímicos, da mecanização e da irrigação, entre outros, mas que, no entanto, mostraram-se pouco sustentáveis. A maior conscientização em compatibilizar a produção agrícola com a conservação ambiental e segurança alimentar tornou-se evidente no final do século passado reiterando a importância da Microbiologia e Bioquímica do Solo. A disputa entre os adeptos da fundamentação biológica e os defensores do “Quimismo”, datam de meados do século XIX quando Liebig descobriu a essencialidade dos elementos minerais e afirmou que “*só adubos fornecem os elementos encontrados nas cinzas das plantas*” enquanto os defensores da Biologia defendiam que “*a fertilização do solo ocorria naturalmente por forças biológica que aproveitam substâncias da própria natureza*”. Na verdade, considerando os cenários e conhecimentos atuais, sabe-se que não se consegue atender as demandas da humanidade em produtos agrícolas, sem os produtos químicos (fertilizantes e defensivos) e, ao mesmo tempo, que as chamadas “forças biológicas”, são na verdade os microrganismos e os processos bioquímicos mediados por eles e que garantem a manutenção e o funcionamento dos ecossistemas terrestres, estabelecendo um forte elo entre a atmosfera e o solo e assim regulando processos globais. Além deste aspecto funcional, a microbiota do solo representa uma fonte inesgotável de biodiversidade como: genes, moléculas e organismos de interesse comercial em várias áreas. Apesar de existir uma massa crítica de especialistas em Microbiologia do Solo no país, há carência de material didático neste importante ramo da Microbiologia e da Ciência do Solo. Esta foi uma das motivações para a elaboração desta obra que decorre de nossa experiência em docência e pesquisa. O texto apresentado nesta segunda edição, contempla o conhecimento mundial e resultados de autores brasileiros, agrupados em diversos temas como: as características e classificação dos organismos do solo, com base em informações atualizadas, procurando ressaltar a importância e o papel desses nos processos bioquímicos do solo e nos ecossistemas; a ecologia do solo enfocando os avanços metodológicos que têm permitido importantes descobertas; os processos bioquímicos com ênfase nas transformações e ciclos dos elementos no sistema solo-planta, destacando-se o fluxo do C, N, P, S e metais, nos ecossistemas e a reciclagem biológica, além da rizosfera, fixação biológica de nitrogênio e micorrizas, que mereceram destaque especial por serem os temas mais estudados e conhecidos da Microbiologia e Bioquímica do Solo.

Elaborar e publicar esta obra foi uma tarefa longa e árdua, e desde sua primeira edição nos empenhamos em executá-la da melhor maneira possível. Nesta edição, revisamos, atualizamos e ampliamos o texto procurando aprimorá-lo. Apesar disto, temos consciência de que esta ainda não é perfeita mas, esperamos que seja útil no aprendizado de Microbiologia e Bioquímica do Solo por alunos de graduação, de pós-graduação e profissionais das várias áreas das Ciências da Vida.

Os autores

X

Sumário

Capítulo 1: Histórico, evolução e tendências	1
Bibliografia	15
Capítulo 2: Os organismos do solo	17
2.1. Diversidade, densidades e funções dos organismos edáficos	17
2.2. Classificação dos seres vivos	23
2.3. Os procariotos	36
2.3.1. Características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas	36
2.3.2. Archae	51
2.3.3. Bacteria	54
2.4. Eucariotos	63
2.4.1. Reino Protocista	63
2.4.2. Reino Plantae	68
2.4.3. Reino Fungi	68
2.4.4. Reino Animalia	78
2.5. Vírus	80
Bibliografia	82
Capítulo 3: Ecologia do solo	83
3.1 Conceitos gerais	83
3.2. O Solo como habitat	85
3.2.1. Componentes do solo: tipos, formas e dimensões	85
3.2.2. Interações (relações) microrganismos-solo	85
3.2.3. Interações de superfícies entre microrganismos e partículas do solo	90
3.2.4. Enzimas	93
3.3. Microrganismos e a agregação do solo	97
3.3.1. Aspectos gerais	97
3.3.2. Cultivo do solo e agregação	103
3.4. Fatores ambientais (físico-químicos) que afetam os microrganismos	107
3.4.1. Aspectos gerais	107
3.4.2. Substratos e fontes de energia	109
3.4.3. Fatores de crescimento	110
3.4.4. Nutrientes minerais	114
3.4.5. Composição e força iônica da solução do solo	115

3.4.6. pH.....	115
3.4.7. Gases do solo.....	120
3.4.8. Água no solo.....	122
3.4.9. Potencial redox.....	127
3.4.10. Temperatura e radiação solar.....	128
3.5. Interações entre organismos.....	130
3.6. Efeitos antropogênicos.....	135
3.7. Métodos de avaliação da biota do solo.....	136
3.7.1. Densidade/diversidade.....	141
3.7.1.1. Avaliações diretas.....	141
3.7.1.2. Avaliações semidiretas.....	141
3.7.1.3. Avaliações indiretas.....	142
3.7.1.3.1. Cultivo e avaliação da ocorrência, densidade e diversidade em meios nutritivos.....	142
3.7.1.3.2. Biomassa microbiana.....	152
3.7.1.3.3. Biomarcadores ou "moléculas assinatura".....	155
3.7.1.3.4. Isolamento e identificação de DNA do solo.....	155
3.7.2. Atividade biológica.....	157
3.7.2.1. Respiração.....	157
3.7.2.2. ATP.....	158
3.7.2.3. Produção de calor.....	158
3.7.2.4. Atividades enzimáticas.....	159
3.8. Qualidade do solo.....	159
Bibliografia.....	161
Capítulo 4: Metabolismo e processos microbianos.....	163
4.1. Os processos microbianos e a manutenção dos ecossistemas.....	163
4.2. Os fundamentos do metabolismo do solo.....	167
4.2.1. Processos de oxirredução.....	172
4.2.2. Metabolismo aeróbico.....	174
4.2.3. Metabolismo anaeróbico.....	176
4.3. Fluxo de energia e dos elementos no sistema solo-planta.....	181
4.4. Enzimas do solo.....	183
4.5. A biomassa microbiana.....	192
4.5.1. Aspectos gerais.....	192
4.5.2. Atividade catalisadora.....	195
Bibliografia.....	201

XII

Capítulo 5: Matéria orgânica do solo	203
5.1. O solo como receptáculo e componente biotransformador	203
5.2. Decomposição da matéria orgânica	206
5.3. Degradabilidade dos constituintes dos resíduos orgânicos	214
5.3.1. Celulose	214
5.3.2. Hemicelulose e pectinas	216
5.3.3. Lignina	216
5.3.4. Outros componentes dos materiais orgânicos	219
5.4. Fatores que influenciam a decomposição	220
5.5. Dinâmica e manutenção da MOS	224
5.6. Compartimentalização e frações da MOS	229
5.6.1. Compartimentos e transformações	229
5.6.2. As substâncias húmicas (húmus)	233
5.6.3. Substâncias orgânicas não humificadas	235
5.7. A mineralização da matéria orgânica	247
5.8. Matéria orgânica do solo e a produtividade	256
Bibliografia	261
Capítulo 6: Xenobióticos no solo	263
6.1. Introdução	263
6.2. O destino e o comportamento dos pesticidas	266
6.3. O impacto sobre a biota e sobre processos do solo	272
6.4. Degradação de xenobióticos no solo	281
6.4.1. As transformações	281
6.4.2. A biodegradação	286
6.4.3. Fatores que afetam a biodegradação	299
6.5. Biorremediação microbiana	303
6.5.1. Técnicas de biorremediação	304
Bibliografia	311
Capítulo 7: Transformações bioquímicas e ciclos dos elementos no solo	313
7.1. As transformações dos elementos e a sustentabilidade	313
7.2. Carbono	320
7.2.1. As transformações e ciclo	320
7.2.2. Emissão e sequestro de carbono no solo	323
7.2.3. A reciclagem de materiais de matriz orgânica	332
7.3. Nitrogênio	338
7.3.1. Aspectos gerais	338

7.3.2. Mineralização/imobilização	340
7.3.3. Nitrificação	350
7.3.4. Processos de redução do nitrato	357
7.3.5. A disponibilidade do N no solo	364
7.4. Fósforo	368
7.4.1. Frações e transformações no solo	369
7.4.2. A mineralização e imobilização biológica de fosfatos	373
7.4.3. Solubilização de fosfatos no solo	376
7.4.4. Absorção e acessibilidade ao P pelas plantas	379
7.5. Enxofre	381
7.5.1. Mineralização e imobilização	383
7.5.2. Transformações inorgânicas	386
7.6. Metais	388
7.6.1. Fontes, deposição e transformações no solo	388
7.6.2. Bioacumulação e bioabsorção	395
7.6.3. Fluxos e ciclos	398
7.6.4. Disponibilidade dos nutrientes poluidores	401
7.7. Considerações finais	402
Bibliografia	404
Capítulo 8: Rizosfera	407
8.1. Raízes: Funções e efeitos sobre o solo	407
8.2. Rizosfera: definição	407
8.3. Tipos de materiais orgânicos depositados na rizosfera	409
8.4. Fatores que afetam a deposição de materiais orgânicos	413
8.5. Ambiente físico químico da rizosfera	417
8.6. Efeito rizosférico sobre a densidade e diversidade microbiana	421
8.7. Microrganismos endofíticos	431
8.8. Efeitos dos microrganismos sobre as plantas	432
8.9. Tecnologias microbianas	440
Bibliografia	447
Capítulo 9: Fixação biológica de nitrogênio atmosférico	449
9.1. A disponibilidade de nitrogênio para os organismos vivos	449
9.2. A nitrogenase	451
9.3. Genes relacionados à FBN	455
9.4. Diversidade e ocorrência dos organismos fixadores de nitrogênio	459
9.5. Associações de fixadores de N ₂ com espécies vegetais	465

XIV

9.6. Simbioses de cianobactérias com fungos, diatomáceas e plantas	476
9.7. Simbioses actinorrízicas	479
9.8. Simbioses de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL).....	485
9.8.1. Leguminosae: importância e papel nos ecossistemas	485
9.8.2. Nodulação em Leguminosae	487
9.8.3. Taxonomia de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas	493
9.8.4. Estabelecimento da simbiose.....	499
9.8.5. Fatores limitantes a FBN em leguminosas	510
9.8.6. Inoculação de leguminosas com BFNNL: a tecnologia e a contribuição.....	527
9.9. Simultaneidade de ocorrência: sistemas fixadores de N ₂	541
Capítulo 10: Micorrizas	543
10.1. Origem da simbiose e evolução da micorrizologia	543
10.2. Tipos de micorrizas.....	546
10.3. Micorrizas arbusculares (MAs)	553
10.3.1. Origem dos fungos (FMAs)	553
10.3.2. Classificação taxonômica dos FMAs	554
10.3.3. Germinação dos esporos e biotrofismo obrigatório	559
10.3.4. Estabelecimento da simbiose	564
10.3.5. Ocorrência das MAs.....	577
10.3.6. Fatores ambientais que afetam as MAs	582
10.3.7. Efeitos no crescimento da planta hospedeira	597
10.3.8. Efeitos nutricionais	605
10.3.9. Alterações fisiológicas na planta	613
10.3.10. Efeitos na agregação do solo	617
10.3.11. Aplicação das MAs.....	619
10.4. Ectomicorrizas	632
10.4.1. Origem e ocorrência	632
10.4.2. Fungos ectomicorrízicos	635
10.4.3. A especificidade fungo-hospedeiro e a sucessão	640
10.4.4. Formação da simbiose ectomicorrízica	641
10.4.5. Efeitos no crescimento da planta hospedeira	647
10.4.6. Aplicação das ectomicorrizas	657
Bibliografia	661
Literatura Citada	663
Índice Remissivo	717

Capítulo 1

Histórico, Evolução e Tendências

Quando a própria existência dos microrganismos ainda era desconhecida, processos mediados por eles já eram utilizados de modo empírico para o bem-estar da humanidade. Documentos de diversas civilizações antes de Cristo relatam, por exemplo, o uso de leguminosas para fertilizar o solo e o consumo de alimentos fermentados. Apesar de Zacharias Janssen ter feito, em 1590, um microscópio rudimentar, a descoberta dos microrganismos é creditada a Anton Van Leeuwenhoek, que, em 1676, construiu o primeiro microscópio, também rudimentar, mas potente o suficiente para observar o que ele chamou de “animálculos” em raspas de placa bacteriana de dente, água e material vegetal em decomposição. Assim, pode-se considerar que a Microbiologia do Solo nasceu juntamente com outros ramos da Microbiologia. A partir dessa descoberta, foram necessários ainda quase dois séculos para que a Microbiologia se impusesse como Ciência, quando foi derrubada a teoria da geração espontânea para formas microscópicas de vida e derrotada a forte oposição dos grandes químicos da época, como o Barão Justus Von Liebig e Berzelius, que afirmavam ser os microrganismos “matéria orgânica sem vida”. Esse grande feito é creditado a Louis Pasteur, que demonstrou a existência de vida sem ar (“La vie sans air”) e que cada tipo de fermentação era mediado por um microrganismo específico. Pasteur desenvolveu ainda os princípios da pasteurização e a imunização, tornando-se o pai da Microbiologia. A partir das descobertas de Pasteur, especialmente na segunda metade do século XIX, a Microbiologia do Solo desenvolveu-se, ocorrendo outras grandes descobertas, embora inúmeras ainda incompletas. Outros fatos importantes, direta ou indiretamente relacionados à evolução desse ramo da Microbiologia como Ciência, encontram-se relacionados na **tabela 1.1**.

Os avanços da Química e da Nutrição Mineral de Plantas na primeira metade do século XIX permitiram verificar que leguminosas possuíam teores mais altos de nitrogênio em relação a outras espécies; assim, sugeriu-se que elas fixavam nitrogênio atmosférico. Importantes pesquisadores da época, como Boussingault, Lawes e Gilbert, entre outros, tentaram comprovar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em leguminosas. Esses tiveram oposição agressiva de Liebig, que, em suas contestações, afirmava que “*só adubos fornecem os elementos encontrados nas cinzas de plantas*” e fracassaram por não estabelecer relação entre a FBN e os nódulos, verdadeiros sítios do processo. Por isso, o rigor dos procedimentos usados nas experiências para impedir a contaminação por nitrogênio também eliminava as bactérias responsáveis pela formação dos nódulos, tornando impossível comprovar o processo da FBN. Em 1858, Lachman observou bactérias nos nódulos, e sugeriu estarem associadas à nutrição de leguminosas, porém seu trabalho foi publicado em um periódico obscuro, atraindo pouca atenção.

2 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

Tabela 1.1. Principais marcos históricos relacionados à origem e ao desenvolvimento da Microbiologia e Bioquímica do Solo

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
Antes de Cristo até século XIV		
Catão, Plínio, Columella, Varrão e Paládio.	Uso de leguminosas para adubação verde. Observação da produção de vapores nos pântanos.	Evidências do efeito biofertilizador das leguminosas com uso difundido entre chineses, gregos e romanos. Evidências da atividade biológica.
Século XIV: Sumerianos, babilônios, egípcios; Em várias partes do mundo.	Obtenção e uso de produtos fermentados e destilados.	Exploração empírica da atividade microbiana na produção de vinagre, bebidas e produtos lácteos. Segundo o livro Gênesis “Noê bebia vinho além da conta”.
1º Grande Avanço: Período Histórico		
Século XVII: Anton Van Leeuwenhoek (1676, Holanda).	Lentes com capacidade de ampliação de objetos.	Ampliou os fundamentos da microscopia e observou os “animáculos”. Início da Microbiologia.
Século XVIII: Carl Linnaeus (1707–1778, Alemanha).	Propôs o primeiro sistema de classificação dos seres vivos.	Classificação e taxonomia binomial. Seres microscópicos eram considerados como “caos”.
Thomas Malthus (1766 – 1834, Inglaterra).	Profecia da fome x Adam Smith (Essay on the Principle of Populations x Wealth of Nations).	Estabelece relação entre a demanda por maior produção de alimentos e bens de consumo em função do crescimento da população.
Albrecht von Thaer (1752 – 1828, Alemanha).	Teoria da humificação de materiais orgânicos e sua importância.	“O húmus possui força vital essencial à vida das plantas”/ “Plantas retiram carbono e outros nutrientes do húmus do solo”.
Século XIX : Charles C. de la Tour (França) Theodor Schwann (Alemanha).	Transformação da matéria orgânica é mediada pelos microrganismos. Papel da matéria orgânica e do húmus do solo.	Disputa sobre o envolvimento de microrganismos no processo de transformação dos materiais orgânicos.

Continua

...Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
Berzelius e Liebig (Alemanha) e outros.	Visões polarizadas entre o "Quimismo" e os princípios biológicos.	Discussões acirradas. Surgiram vários trabalhos sobre o envolvimento dos microrganismos do solo na decomposição.
Vittadini (1831, Itália).	Interação raízes – fungos.	Observou que as raízes eram colonizadas por fungos do solo, mas sem sintomas específicos.
Liebig (1840, Alemanha).	Postula que N, P e K são requeridos para o crescimento das plantas. Teoria da essencialidade dos nutrientes: reforça o "Quimismo".	Postulados serviram de base para a nutrição vegetal e indústria de fertilizantes, insumo que revolucionou a produção agrícola.
Nägeli (1842).	Avançou no estudo das relações entre fungos-raízes.	Descreveu a interação dando evidências da existência dos arbúsculos.
Lachman, Boussingault, Lawes e Gilbert (França e Inglaterra).	Valor das leguminosas para a fertilidade do solo deve-se à sua capacidade de fixar biologicamente o N atmosférico (FBN).	Fracassaram ao provar que o valor das leguminosas devia-se a FBN. Não foram capazes de estabelecer a relação entre nódulos e ganho de N.
Liebig e Frank.	Ambos defensores do "Quimismo".	Refutavam com veemência a teoria da fixação de N ₂ afirmando: "Só adubos fornecem os elementos encontrados nas cinzas vegetais".
2º Grande Avanço: Período Áureo – Século XIX (segunda metade)		
Zeidler, Tese Ph.D. na Alemanha em 1874.	Síntese do DDT em laboratório (inicia-se a era dos xenobióticos).	Propriedade de inseticida só descoberta 60 anos depois.
Louis Pasteur (1830 – 1900, França).	Elucidação da anaerobiose e confirmação de vários processos microbianos.	Queda da teoria da geração espontânea (1857) microbiologia da fermentação, pasteurização e imunização.

Continua

4 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
Pfeffer (1877).	Deu seqüência aos estudos da relação fungo-raízes.	Propôs a natureza simbiótica da relação, o que seria mais tarde denominado mutualismo.
De Bary (1879).	Propõe o termo "simbiose" e sua definição.	Vida conjunta de dois organismos dissimilares. Aplicado primeiramente aos líquens.
Koch e colaboradores (1881, Alemanha).	Desenvolvem o método da gelatina em placas e propem os postulados sobre microrganismos patogênicos.	Isolamento e cultivo de bactérias e relação agente causal (patógeno) e doença vegetal.
Bernard Frank (1885, Alemanha).	Estudando a colonização de raízes de árvores por fungos, empregou pela primeira vez o termo micorriza.	Denominou a relação e demonstrou seus benefícios para a nutrição das árvores, fato altamente contestado pelos patologistas da época.
Hellriegel & Wilfarth (1886, Alemanha).	Conduziram estudos experimentais sobre a fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas.	Demonstraram a fixação simbiótica Liebig calou-se, mas Frank rebateu veementemente a nova proposição da FBN.
Beijerinck (1885 – 1901, Holanda).	Desenvolveu o método de culturas de enriquecimento. Primeiro isolamento de bactérias em nódulos de leguminosa (<i>Bacillus radicola</i> , 1888).	O organismo foi mais tarde denominado <i>Rhizobium leguminosarum</i> ironicamente por Frank que inicialmente contestava a existência da fixação de N ₂ .
Muntz (1890).	Descobriu a capacidade dos microrganismos de dissolver materiais inorgânicos.	Decomposição e intemperização de rochas e ciclos biogeoquímicos dos elementos - intemperismo biológico.
Sergei Winogradsky (Rússia – 1856-1953) - 1890-92.	Descoberta da nitrificação / autotrofia microbiana, oxidação do enxofre. Introduziu a cultura de enriquecimento desenvolvida por Beijerinck. Início da Microbiologia Experimental do Solo.	Melhorou o isolamento de tipos especiais de microrganismos do solo. Bases da ecologia microbiana do solo abordando "os microrganismos como eles ocorrem, interagem e funcionam em seu habitat".

Continua

Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
Buchner (1897).	Metabolismo celular e enzimas oxidantes no solo.	Marco inicial sobre a existência de processos bioquímicos no solo.
Weissenberg (1897).	Descobriu a existência dos desnitrificadores.	Responsáveis por importante processo de perda do N e emissão de gases do solo.
3º Grande Avanço: Ciência Autônoma – Século XX (até 1950)		
Stahl (1900).	Demonstrou inequivocamente os benefícios das micorrizas.	Efeitos definidos na nutrição vegetal.
Nitragin (Alemanha).	Primeiro inoculante microbiano.	Aplicação de rizóbio na agricultura.
Brown (1901).	Folhas das plantas absorvem CO ₂ do ar.	Bases da fotossíntese que têm estreita relação com a Microbiologia do Solo.
Mitscherlich (1909-1930).	Avanços no entendimento da decomposição de materiais orgânicos no solo.	Encontra indícios da relação entre a transformação de restos vegetais e a fertilidade do solo.
Beijerinck (1901, Holanda).	Descobre as bactérias do gênero <i>Azotobacter</i> .	Responsáveis pela fixação assimbiótica de N ₂ .
Haber (Alemanha).	Descobre condições para síntese química da amônia.	Base para produção industrial de fertilizantes nitrogenados. Prêmio Nobel de Química de 1919.
Bosch (Alemanha).	Incrementa o processo de Haber em escala industrial.	Grande benefício para a humanidade. Prêmio Nobel de Química de 1931.
Hiltner (1904, Alemanha).	Lança o conceito de rizosfera como zona de alta atividade biológica ao redor das raízes.	Plantas atraem hóspedes convidados e não convidados para suas raízes.
Sackett (1908).	Relaciona microrganismos com as transformações de P no solo.	Estabelece a função dos microrganismos na dissolução do P.

Continua

6 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
IAC, Campinas (1908).	Primórdios da Microbiologia do Solo no Brasil e surgem as primeiras publicações sobre o tema.	Criado o 1º laboratório de Microbiologia Agrícola, com atuação em solos. A.B.U. Cavalcanti: "A vacinação do solo". M. Passon: "Os nossos fixadores de azote".
Felix Lohnis (1910, Alemanha); Lipman(1908, EUA), Con (1918); Lönis & Fred (1923); E.J.Russel (1923).	Primeiras publicações considerando os microrganismos do solo, suas atividades e relações com a produção agrícola.	Consolidação da Microbiologia do Solo. Lohnis - 1º livro Microbiologia do solo "Handbuch der Landwirtschaftliche Bakteriologie (19 edições).
Lipman (1916, EUA).	Tenta relacionar atividade dos microrganismos com produtividade agrícola.	A baixa produtividade do solo é o reflexo de uma máquina microbiológica defeituosa.
1916 (EUA).	É lançada a primeira edição do periódico "Soil Science".	Forte ênfase em processos biológicos (54% do total de artigos publicados).
Jones (1924).	Estudou os efeitos da fumigação do solo no crescimento vegetal.	Verificou indiretamente o benefício nutricional das endomicorrizas, eliminadas pela fumigação.
Selman Waksman (1927, EUA).	Publica o livro "Principles of Soil Microbiology", que se tornou a bíblia da Microbiologia do Solo.	Consolidação dos fundamentos e aplicação da Microbiologia do Solo: população microbiana era o enfoque principal.
Alexander Fleming (1928, escocês na Inglaterra) e Rene Dubos (francês nos EUA, 1939).	Descoberta dos antibióticos penicilina (de <i>Penicillium notatum</i>) e gramicidina (de <i>Bacillus brevis</i>) em microrganismos do solo. Fleming não relacionou propriedades nem isolou a substância.	Inicia-se a aplicação dos metabólitos microbianos e da antibiose. Controvérsias sobre o crédito da descoberta dos antibióticos a Fleming. Florey, Chain e Fleming demonstraram uso clínico posteriormente e ganharam o prêmio Nobel em 1945.

Continua

Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
No Brasil, Perrier (1930).	Inicia-se a pesquisa em rizobiologia no Instituto Agrônomo de Campinas.	Produção do primeiro inoculante para alfafa no País.
Paul Muller (1938).	Propriedade inseticida de amplo espectro do DDT: usado para erradicar mosquitos causadores da malária nas forças do Pacífico da 2ª Guerra Mundial.	Ganha o Prêmio Nobel em 1948. A persistência do produto, porém, causa danos aos animais, incluindo o homem. Problema ambiental, denunciado em 1962, no livro "Silent Spring". O uso da substância foi proibido.
Howard (1943)	Estuda a relação entre Micorriza e a sanidade das plantas.	Micorriza é essencial à sanidade das plantas.
Avery (1944, EUA).	O DNA é responsável pela informação genética.	Empregando a transformação bacteriana.
Álvaro Barcelos (1947-51) Ph.D. com Waksman (EUA).	Criou novo núcleo de pesquisa em Microbiologia do Solo no SNPA -RJ e contratou a jovem imigrante Johanna Döbereiner.	Döbereiner inicia a pesquisa em FBN associativa e simbiótica e impulsiona a formação de recursos humanos.

4º Grande Avanço: Período Moderno – Século XX (após 1950)

Década de 50, em várias partes do mundo.	Euforia das altas produtividades para resolver problemas da fome. Surgem os opositores a essa concepção, formando as bases para a agricultura alternativa e orgânica.	Amplio desenvolvimento científico e tecnológico da agricultura: surgem os dissidentes que rejeitam os agroquímicos e valorizam o potencial biológico dos sistemas produtivos. Amplia-se o interesse pela reciclagem e produção de húmus e processos microbianos.
Johanna Döbereiner (1951, RJ).	Apresenta os primeiros trabalhos na Reunião Brasileira de Ciência do Solo em Recife (PE). Em 1953, "Azotobacter em solos ácidos" é publicado.	Início da pesquisa em FBN associativa no Brasil. Seu laboratório expandiu, tornando-se, posteriormente, centro de referência mundial em fixação de N ₂ .

Continua

8 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
João R. J. Freire(1951, IPAGRO-RS).	Primeira publicação específica: "A inoculação de leguminosas".	Início da difusão dessa tecnologia no Brasil.
Winogradsky (1952, Rússia).	Lança o livro "Mikrobiologiya Pochvy".	Grande ênfase na função microbiana, consolidando a contribuição dos russos à Microbiologia do Solo.
Selman Waksman (1952).	Quando estudava a decomposição da matéria orgânica no solo, descobriu antibióticos por actinomicetos do solo.	Prêmio Nobel da Medicina em 1952 pela descoberta da estreptomicina (de <i>Streptomyces griseus</i>).
Watson e Crick (1953, EUA).	Elucidam a estrutura do DNA.	Grande impacto na genética e biologia celular. Prêmio Nobel em 1953.
Kornberg (1957).	Descobre a DNA polimerase.	Revoluciona os estudos de Biologia Molecular.
MacLaren e colaboradores (década de 60).	É consolidada a Bioquímica do Solo e a abordagem sobre populações. Surge o periódico "Soil Biology and Biochemistry" (1967).	Grande enfoque para processos (Ex: isolamento da nitrogenase por Carnahan e colaboradores e biomassa microbiana).
Martin Alexander (1961, EUA).	Professor em Cornell-EUA, lança o livro: "Introduction to Soil Microbiology".	Texto com uma abordagem holística e que se tornou referência na área.
IPAGRO-RS (1968).	Estirpe isolada de solo brasileiro torna-se inoculante para soja.	Inicia-se a biofertilização dos campos brasileiros.
Marmur & Doty (1961); Arber (1962); Nirenberg et al. (1966) e Gellert (1967).	Renaturação/Hibridização do DNA/Endonucleases de restrição/ Sequências do DNA/ Elucidação do código genético/ DNA ligase.	Bases para tecnologia do DNA recombinante: enorme impacto na pesquisa básica e no desenvolvimento da biotecnologia.

Continua

Tabela 1.1. Continuação

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
Norman Borlaug (EUA) e outros.	Idealizou o avanço da Agroquímica, melhoramento vegetal e mecanização intensiva (Revolução Verde).	Borlaug ganha o prêmio Nobel em 1970. Grande impacto na produção agrícola mundial. Inicia-se um período de pouco interesse em Microbiologia do Solo.
EUA: Boyer et al. (1972/73); Southern (1975) e Sanger et al. (1975/77).	Tecnologia do DNA recombinante (clonagem por inserção em elementos autoduplicativos, e.g. vírus, plasmídeos; renaturação ou hibridização; métodos mais rápidos de sequenciamento).	Permitiu o desenvolvimento de técnicas bioquímicas, genéticas e moleculares aplicadas à Microbiologia do Solo: grandes avanços na caracterização, ecologia e função microbiana.
Jenkinson & Powelson (1976).	Método da fumigação incubação /Biomassa Microbiana	Estudo da microbiota do solo como um todo: abordagem holística.
Vários autores no final da década de 70.	É consolidada a revolução verde e surge a primeira crise energética; preocupação com recursos naturais não renováveis e idéia de sustentabilidade.	Fixação de N ₂ e efeito biofertilizante e de biocontrole dos microrganismos voltam a despertar interesse científico e comercial.
Döbereiner e colaboradores.	Intensifica-se a descoberta de novas espécies de diazotróficos associativos e seleção de rizóbio para a soja.	Pesquisa brasileira em Microbiologia do Solo alcança projeção internacional. Ocorre a formação de pesquisadores nucleadores de novos grupos. Estirpe 29W é selecionada para inoculação.
Década de 80.	Consolida-se a necessidade de produzir sustentavelmente, conservando o ambiente e a biodiversidade, e a redução no uso de agroquímicos e cultivo mínimo do solo.	Microrganismos do solo e seus processos têm importância aumentada, mas a falta de conhecimento básico limita a aplicação plena da Microbiologia do Solo na produção.

Continua

10 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

Tabela 1.1. Conclusão

Época/Data Autoridade/Povo/Região	Fato/Evento	Comentários
Palmiter & Brinster (1981); Sprading & Rubin (1982); Monsanto (1986); Integrated Genetics (1987).	Primeiros organismos geneticamente modificados – OGMs (transgênicos).	Organismos transgênicos respectivamente: camundongos, moscas de frutas, gene de vagalume em tabaco; gene humano em camundongo. Inicia-se a comercialização de variedades transgênicas e o debate sobre questões éticas e ambientais.
Mullis e colaboradores (1985).	Reação em cadeia da polimerase (PCR).	Amplificação do DNA “in vitro”: obtêm-se milhões de cópias em poucas horas. Revolução na genética molecular. Prêmio Nobel de Química em 1993.
Kimura (1983).	“Relógios evolucionários” (e.g. genes ribossomais).	Permitiu análises genéticas e o estabelecimento de relações filogenéticas entre os organismos.
Carl Woese (1977-1987).	Catálogo e seqüenciamento de ácidos ribonucléicos ribossomais possibilita a classificação filogenética de bactérias.	Taxonomia bacteriana passa de artificial a natural (filogenética).
Década de 90.	Preparação para o próximo milênio: ênfase na integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção; bases do segundo paradigma da fertilidade do solo. Novo paradigma para alcançar a sustentabilidade agrícola.	Maximizar a aplicação de métodos avançados para alcançar melhor entendimento da diversidade, forma e função microbiana do solo visando atingir a destoxificação do ambiente e a sustentabilidade dos ecossistemas e da produção.
Século XXI.	Ênfase na biodiversidade, impactos do uso da terra, emissão de gases do efeito estufa, biorremediação e dos cultivos transgênicos. Ampliação da agricultura orgânica e da reciclagem no solo.	Solo como um ecossistema diverso meio para disposição de resíduos e reciclagem de poluentes. Mediador de processos globais, a plataforma fundamental dos ecossistemas terrestres e do agronegócio.

Finalmente, em 1886, a FBN foi comprovada por Hellriegel e Wilfarth e, em 1888, as bactérias responsáveis pelo processo foram isoladas dos nódulos por Beijerinck e denominadas de *Bacillus radicolica*. Outras grandes descobertas da época incluem a autotrofia microbiana e a nitrificação, por Sergei Winogradsky, considerado o pai da Microbiologia do Solo. As micorrizas, a fixação assimbiótica de N_2 e a desnitrificação, entre outros processos, além da produção do primeiro inoculante microbiano, o “Nitragin”, na Alemanha, foram também fatos marcantes no final do século XIX.

No século XX, a Microbiologia do Solo tornou-se ciência autônoma, quando surgiram os primeiros livros relacionando a microbiota do solo com processos importantes para a produção agrícola. No Brasil, foi criado o 1º Laboratório de Microbiologia Agrícola no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), enquanto Hiltner, na Alemanha, definia o termo rizosfera como área de grande atividade microbiana ao redor das raízes. Nas décadas de 20 a 50 ocorreram as descobertas dos antibióticos e sua aplicação. Embora René Dubos e Fleming já tivessem descoberto os antibióticos, Selman Waksman, pesquisador da Universidade de Rutgers - EUA, ganhou o Prêmio Nobel de Medicina em 1952, pela descoberta da estreptomicina produzida por actinomicetos do solo do gênero *Streptomyces*. A Microbiologia do Solo vivia, então, sua fase áurea e os pesquisadores procuravam estabelecer relações funcionais dos microrganismos como, por exemplo, entre a contagem de microrganismos e suas atividades no solo como índice indicador de fertilidade. Entretanto, essa abordagem fracassou em vista, principalmente, das limitações técnicas, como a dos meios de cultivo, que detectam pequena porcentagem, cerca de 1% da comunidade microbiana no solo. Além disso, outros fatores determinam a fertilidade do solo e qualquer um deles pode restringir a produtividade vegetal, conforme já havia sido estabelecido pela Lei do Mínimo, proposta por Liebig, válida até hoje. Embora Liebig tenha sido um dos mais agressivos opositores ao papel dos microrganismos do solo e seus processos biológicos na nutrição vegetal, suas teorias e descobertas fundamentaram a Nutrição Mineral de Plantas e permitiram o desenvolvimento dos fertilizantes.

No início da década de 50, outros dois importantes núcleos de Microbiologia do Solo foram criados no Brasil. O IPAGRO no Rio Grande do Sul e outro no km 47, no Estado do Rio de Janeiro. Este último foi estabelecido pelo Dr. Álvaro Barcelos Fagundes, que havia recebido o Ph.D. sob orientação de S. Waksman. Dr. Barcelos contratou a jovem agrônoma Johanna Döbereiner para fazer parte de seu grupo, a qual logo assumiu a liderança daquele setor, tornando-se o símbolo da área no País e a mentora da atual EMBRAPA - Agrobiologia, em Seropédica (RJ), que se tornou um centro de referência mundial em Microbiologia do Solo. Em 1951, Döbereiner apresentou seu primeiro trabalho em Microbiologia do Solo nos anais da primeira Reunião Brasileira de Ciência do Solo no Recife em colaboração com Fagundes, intitulado “Influência da cobertura do solo sobre sua flora microbiana” e, em 1953, já publicava a ocorrência de *Azotobacter* em solos brasileiros. Dra. Johanna iniciou, assim, uma caminhada de várias décadas que resultou na descoberta de inúmeras novas bactérias fixadoras de N_2 nas gramíneas e em outras espécies vegetais de interesse econômico para o País. Na mesma época, Dr. João Rui Jardim Freire do IPAGRO-RS iniciou sua produção científica em fitopatologia em 1946; a partir de 1950, começou a realizar trabalhos em rizobiologia com a primeira publicação nessa área em 1951, no boletim Agronomia e Veterinária de Porto Alegre, intitulada “Inoculação de leguminosas”.

No final da década de 50 e início da de 60, o mundo viveu a euforia das altas produtividades, resultantes do avanço científico e tecnológico que culminou com a chamada revolução verde. Esta tinha como base de

12 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

produção o emprego de agroquímicos para melhorar a nutrição das plantas, o que levou os processos biológicos a serem relegados a segundo plano. Surgiram, então, os dissidentes que rejeitavam o uso de agroquímicos na agricultura dando origem às bases da chamada agricultura orgânica, que se baseia fundamentalmente no potencial biológico dos sistemas de produção. Na década de 70, os primeiros efeitos colaterais do uso de agroquímicos, do cultivo intensivo e do melhoramento genético para a produtividade vegetal, tornaram-se evidentes, além da crise energética mundial que teve enorme impacto nos custos de produção. Assim, houve maior conscientização sobre o meio ambiente, criando novos desafios, que se resumem em “produzir sustentavelmente”, abrindo e ampliando novamente o potencial e os horizontes da Microbiologia do Solo, que já podia contar com algum auxílio de novas técnicas como a da avaliação da microbiomassa do solo, e da Biologia Molecular e da Engenharia Genética. O conceito de biomassa microbiana e o desenvolvimento de um método para sua determinação nos anos 70, assim como as técnicas moleculares, representaram avanços importantes para uma abordagem holística da microbiota do solo e de seus processos.

A partir dos anos 70 inicia-se a era da Genética Molecular. Através do desenvolvimento de várias técnicas denominadas “Tecnologia do DNA recombinante”, hoje é possível: clivar o DNA em sítios específicos, facilitando o isolamento e manipulação de genes individuais, seqüenciar todos os nucleotídeos em fragmentos de DNA, hibridar o ácido nucléico, clonar o DNA em milhões de cópias idênticas e alterar suas seqüências para inseri-las novamente em organismos, obtendo-se os organismos transgênicos. A Microbiologia do Solo teve participação importante no desenvolvimento de vegetais transgênicos, pois as primeiras inserções gênicas foram realizadas através de plasmídeos de *Agrobacterium*, uma bactéria comum no solo. Além disso, muitos dos genes que atualmente são inseridos nas plantas visando a características agrônômicas específicas, têm origem em bactérias do solo, como, por exemplo, o gene Bt da endotoxina bioinseticida de *Bacillus thuringiensis* e outros do gênero *Streptomyces*. Atualmente, cerca de setenta milhões de hectares são cultivados com variedades transgênicas, representando uma revolução tecnológica no campo. A descoberta de cronômetros moleculares, seqüências altamente conservadas, denominadas “relógios evolucionários”, possibilitou inferir sobre a história evolucionária dos organismos e de suas relações, evidenciando relações estreitas entre microrganismos simbióticos e patógenos assim como a imensa diversidade dos procaríotos. O fascínio exercido por essas descobertas provocou massiva pesquisa na área, em detrimento de outras, como, por exemplo, a ecologia microbiana e a pesquisa aplicada de campo. No entanto, técnicas moleculares estão sendo desenvolvidas para o estudo da ecologia microbiana do solo e têm se revelado um poderoso instrumento para superar limitações técnicas. Por exemplo, através de extração e análise do DNA do solo, foi revelada uma diversidade de microrganismos 200 vezes maior que a obtida por métodos tradicionais de detecção em placas, com meios de cultura. Sondas genéticas acopladas a corantes fluorescentes e microscópicos de alta resolução estão permitindo detectar e monitorar células bacterianas de espécie particular ou grupo filogenético específico, abrindo assim novas possibilidades para análise de microrganismos e de sua diversidade *in situ*.

Impactos econômicos expressivos do uso de microrganismos na agricultura podem ser exemplificados pela inoculação da soja com rizóbio substituindo os adubos nitrogenados. No Brasil, essa tecnologia está bastante difundida em todas as regiões e representou, em 2004, uma economia de cerca de dois bilhões de dólares que seriam gastos com fertilizantes nitrogenados. Com esse fim, têm sido pesquisados outros organismos promotores de crescimento vegetal e para controle biológico de

pragas e doenças. A pesquisa brasileira com fixação de N_2 associativa, iniciada pela Dra. Johanna Döbereiner, ganhou impulso com a descoberta de novas espécies e teve reconhecimento mundial; os estudos com micorrizas foram intensificados a partir da consolidação de grupos em várias instituições e as pesquisas com simbioses de rizóbio com leguminosas florestais levaram à descoberta de centenas de novas simbioses, além da constatação da elevada biodiversidade do microssimbionte nos ecossistemas brasileiros. Os microbiologistas brasileiros de maior destaque – Dra. Johanna Döbereiner e Dr. João Rui Jardim Freire – receberam várias homenagens no final do século, em vista de sua significativa contribuição para o desenvolvimento da Microbiologia do Solo no País, tanto na geração de conhecimentos, como na formação de recursos humanos. Hoje, vários grupos de pesquisa em Microbiologia do Solo encontram-se bem estabelecidos e consolidados em todas as regiões do País, principalmente graças ao trabalho desses e de outros pesquisadores pioneiros na área, os quais iniciaram linhagens que já estão pelo menos na quarta geração. Infelizmente, em outubro de 2000, o Brasil perdeu uma das mais importantes personalidades científicas do país: a Dra. Johanna Döbereiner, que faleceu no Rio de Janeiro, aos 76 anos. Sem dúvida, as realizações dessa cientista brilhante e entusiasta permanecerão para gerações futuras como avanços significativos da Microbiologia do Solo no Brasil.

A demanda da sociedade pela produção de alimentos, associada à manutenção da qualidade ambiental, trouxe para este século um grande desafio que é a integração dos fatores biológicos nos sistemas de produção. A agrotecnologia do século XXI tem como paradigma “a otimização da eficiência biológica visando à produção sustentada dos agroecossistemas”. Como ilustrado na **figura 1.1**, os



Figura 1.1. O fundamentos da agrotecnologia do século XXI: Integração de conhecimentos de vanguarda para otimizar os processos biológicos do agrossistema.

14 Capítulo 1 · Histórico, Evolução e Tendências

agroecossistemas têm como plataforma operacional o solo e seu ambiente imediato, que, por meio da biota e seus processos, garantem o fluxo de energia e nutrientes entre o solo e a vegetação. A reciclagem e a adubação e calagem mantêm a fertilidade adequada do solo às culturas. Portanto, os organismos do solo, suas interações e atividades representam componentes essenciais para a sustentabilidade dos agroecossistemas, desde que se empregue o manejo correto do solo. Além de manter as condições nutricionais adequadas no solo para cultura, outros fatores são cruciais para a estabilidade do agrossistema e da produção das culturas. Dentre tais fatores, destacam-se: a seleção do genótipo ou cultivar, o manejo da nutrição mineral, o controle de pragas e doenças, das plantas daninhas, a disponibilidade de água para a cultura e o sistema de produção. Sem o controle ou adequação dessas limitações, não se consegue boa produtividade e, muito menos, uma produção eficiente e sustentável. Para fazer a adequação do sistema produtivo, faz-se necessário recorrer a diversas tecnologias, como: melhoramento genético e biotecnologia, adubação de cobertura ou foliar, aplicação de pesticidas ou controle biológico, manejo da água no solo ou irrigação, e sistema de cultivo, como rotação, consorciação e uso da cobertura vegetal ou cobertura morta (plantio na palha). Na plataforma do agrossistema, deve-se adequar as condições químicas do solo por meio de calagem, adubação ou reciclagem e adotar um sistema de plantio conservacionista, reduzindo-se ao mínimo o revolvimento do solo e mantendo-se um rigoroso controle da erosão. Isso envolve, entre outros, a Biotecnologia, a reciclagem e o cultivo mínimo do solo. Nesse novo enfoque, a Biologia do Solo, particularmente a Microbiologia, através da diversidade microbiana e processos bioquímicos, assume papel decisivo na definição dos sistemas de produção. Nesse sentido, em 1998, realizou-se a I FertBIO no Brasil (Caxambu, MG), sob o tema “Inter-relação Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Plantas”, integrando quatro importantes eventos nas áreas a saber: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas; Reunião Brasileira sobre Micorrizas; Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo e Reunião Brasileira de Biologia do Solo. A V FertBIO está programada para 2006, em Bonito (MS), consolidando o anseio dos pesquisadores de integrar as várias áreas do conhecimento em Ciência do Solo e Nutrição de Plantas.

A Microbiologia do Solo evoluiu muito como ciência. No século XX milhares de organismos que realizam processos benéficos ou maléficos foram descobertos, estando muitos deles sendo usados para o bem-estar da humanidade. No entanto, esses avanços possibilitaram também vislumbrar quanto se ignora ainda sobre esses pequenos seres, suas atividades e relações com o ambiente, especialmente o solo, que é considerado o mais complexo, heterogêneo e dinâmico dos *habitats* microbianos conhecidos. O conhecimento da imensa biodiversidade do solo e suas relações ecológicas e funcionais com o ambiente edáfico e com as plantas representa um grande desafio da pesquisa neste século. O solo, considerado uma entidade viva, deixa de ser simplesmente meio para o crescimento de plantas e torna-se um grande mediador dos processos globais, graças à sua atividade transformadora que equilibra o mais importante processo biológico do planeta: a fotossíntese. Espera-se que os avanços atuais e futuros da Microbiologia do Solo possibilitem o entendimento da funcionalidade microbiana *in situ* de modo a permitir seu manejo integrado aos de outros fatores de produção com fins de sustentabilidade dos diversos ecossistemas agrícolas e florestais, contribuindo, assim, para a qualidade ambiental e bem-estar econômico.

BIBLIOGRAFIA

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1997. Cap.7, p.292-335.

ALEXANDER, M. Soil microbiology in the next 75 years: fixed, flexible, or mutable? **Soil Science**, Baltimore, v.151, p.35-40, 1991.

DEMAIN, A.L.; SOLOMON, N.A. Industrial Microbiology. **Scientific American**, Madison, v.245, p. 67-75, Sept. 1981.

DOBEREINER, J.; PAULA, M.A. de; MONTEIRO, M. da S. A pesquisa em microbiologia do solo no Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.50, n.40, p.841-854, 1990.

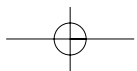
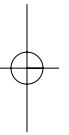
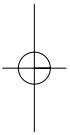
LOPES, E.S. Histórico da microbiologia do solo na América Latina. In: SOLO-SUELO-96, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** Águas de Lindóia, 1996. CD-ROM.

MADSEN, E.L. A critical analysis of methods for determining the composition and biogeochemical activities of soil microbial communities in situ. In: BOLLAG, J.; STOTSKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p.287-370.

NUTMAN, P.S. Centenary lecture. **Transactions of the Royal Microscopical Society of London**, London, v. 317, n.1, p.69-106, Jan. 1987.

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

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Microbiologia do solo: evolução, avanços e desafios. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, XXVI, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** Rio de Janeiro, 1997, CD-ROM.



Capítulo 2

Os Organismos do Solo

2.1. Diversidade, densidades e funções dos organismos edáficos

Quando se fala em biodiversidade e extinção de espécies, a mídia sempre se refere às espécies vegetais e animais que vivem acima do solo. As comunidades de organismos micro e macroscópicos que habitam o solo, por não estarem visíveis aos olhos humanos, raramente são mencionadas e, por isso, geralmente negligenciadas. No entanto, essas comunidades “invisíveis”, principalmente os microrganismos, realizam atividades imprescindíveis para a manutenção e sobrevivência das comunidades vegetais e animais. Como disse Louis Pasteur: “O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande”. No solo, as atividades principais dos organismos são: decomposição da matéria orgânica, produção de húmus, ciclagem de nutrientes e energia (incluindo a fixação de nitrogênio atmosférico), produção de compostos complexos que contribuem para a agregação do solo, decomposição de xenobióticos e controle biológico de pragas e doenças, entre outras funções que serão abordadas em detalhes em outros capítulos.

Com base em seu tamanho, a biota do solo pode ser classificada em microrganismos, micro, meso e macrofauna (**Tabela 2.1**). Alguns autores ainda denominam os microrganismos de “microflora”. Esse termo, no entanto, não é adequado, uma vez que se originou da primeira classificação dos microrganismos feita por Linnaeus, quando eram agrupados junto com as plantas (flora) no Reino Vegetal (Plantae). A densidade de todos os grupos de organismos varia em função de características edáficas e climáticas específicas de cada ambiente; os dados da tabela 2.1, portanto, são apenas referências. Pode-se notar que, à medida que o tamanho do indivíduo aumenta, diminui a densidade do grupo. Assim, as bactérias, de modo geral, representam o grupo mais numeroso. Fungos, bactérias e minhocas são os que geralmente apresentam maior biomassa. Em termos de biomassa, os organismos do solo podem exceder mais de 10 toneladas por hectare, quantidade equivalente ou até maior que as melhores produções de certas culturas agrícolas.

A diversidade biológica é definida como a variabilidade entre os organismos vivos. Geralmente, é atribuída à diversidade de espécies; no entanto, ela pode ser medida em vários níveis taxonômicos (família, gênero, intra espécie etc.) ou, ainda, em termos de determinadas características genéticas ou fenotípicas (morfológicas, bioquímicas, fisiológicas, simbióticas). A diversidade funcional dos organismos do solo é, também, bastante elevada, ocorrendo, até mesmo, entre espécies do mesmo

Tabela 2.1. Tamanho*, densidade e biomassa dos principais grupos de organismos do solo por m² (Modificado de Metting-Jr. 1992, e Decaens et al., 1994).

Grupo	Biomassa	Densidade
	-----g-----	-----número**-----
Microrganismos		
Bactérias***	50	10 ¹⁴
Fungos	100	10 ¹¹
Algas	1	10 ¹⁰
Microfauna (<0,2 mm)		
Protozoários	9	10 ¹⁰
Rotíferos	0,01	10 ⁵
Nematóides	10	10 ⁷
Mesofauna (0,2 - 10 mm)		
Ácaros	1	10 ⁶
Colêmbolas	0,6	10 ⁴
Enquitríqueos	2	10 ⁴
Macrofauna (>10 mm)		
Minhocas	50	10 ²
Cupins	4,0	10 ³
Formigas	0,5	10 ³
Coleópteros	2,5	10 ²
Arachnida	0,5	10
Myriapoda	1,5	10
Outros	2,5	10 ²

* Baseado na largura do corpo.

** Ordem de grandeza.

*** Inclui actinomicetos e cianobactérias.

gênero. No gênero *Bacillus*, por exemplo, existem espécies fixadoras de nitrogênio atmosférico (e.g. *B. polymyxa*-syn. *Paenibacillus polymyxa*), patógenos de larvas de insetos, que são utilizados como controle biológico (e.g., *B. thuringiensis*, conhecido como “bactéria inseticida”) e patógenos de animais altamente virulentos, como *B. anthracis* (conhecido como anthrax) e *B. cereus* (que é também solubilizador de fosfatos). Os organismos edáficos apresentam alta diversidade metabólica, o que os torna extremamente versáteis para ocupação dos diversos nichos ecológicos. Dependendo da fonte de carbono utilizada (CO₂ ou substâncias orgânicas), da fonte de energia (luminosa ou química) e da fonte de elétrons (inorgânica, orgânica ou água), os organismos são classificados em: fotolitotróficos, quimiolitotróficos, fotoorganotróficos, fotoaquatróficos e quimiorganotróficos (**Tabela 2.2**). Esses termos derivam de outros mais simples, muito encontrados na literatura, como: 1) autotróficos e heterotróficos respectivamente: organismos que assimilam carbono de fontes inorgânicas (CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻) ou orgânicas; 2) fototróficos e quimiotróficos, organismos que, respectivamente,

Tabela 2.2. Tipos de metabolismo dos organismos do solo.

Fonte de elétrons	Fonte de Carbono	Fonte de energia	
		Luz	Química
Inorgânica	CO ₂	Fotolitotróficos, e.g. bactérias púrpuras metabolizantes do S.	Quimiolitotróficos, e.g. bactérias nitrificadoras.
Orgânica	Substâncias Orgânicas	Fotoorganotróficos, e.g. bactérias púrpuras, exceto metabolizantes do S.	Quimiorganotróficos, e.g. decompositores (a maioria das bactérias, fungos), animais.
Água	CO ₂	Fotoaquatrófico, e.g. plantas superiores, algas verdes e cianobactérias	

obtêm energia da luz solar ou da oxidação de moléculas orgânicas ou inorgânicas e 3) litotróficos e organotróficos, respectivamente, organismos que obtêm equivalentes redutores de materiais inorgânicos ou orgânicos. Outros termos, como fotoautotróficos (ou fotolitotróficos), quimioautotróficos (ou quimilitotróficos), fotoeterotróficos (ou fotoorganotróficos), quimioeterotróficos (ou quimiorganotróficos), quimiorganoeterotrófico e fotolitoautotrófico também são de uso comum na literatura.

Os quimiorganotróficos, que utilizam energia química e substâncias orgânicas como fonte de carbono e elétrons, são os mais abundantes no solo em densidade e diversidade, compreendendo a fauna, os fungos e a maioria das bactérias e participando de várias funções importantes, como o controle biológico e a degradação da matéria orgânica e de xenobióticos.

Os organismos podem ser biófagos quando se alimentam de seres vivos, constituindo uma das bases do controle biológico – a predação, ou saprófagos, quando se alimentam de matéria orgânica morta. Estes não são excludentes, ou seja, muitos organismos são saprófagos e biófagos; nesse caso, podem ser chamados de onívoros, ou seja, alimentam-se de tudo. Outra classe de organismos é a dos simbiotróficos, que se nutrem de substâncias oriundas da simbiose com organismos vivos. As simbioses dividem-se em mutualistas e parasíticas. No primeiro caso, os dois organismos são beneficiados e, no segundo, um deles é beneficiado e, o outro, prejudicado. Importantes organismos simbiotróficos são os rizóbios e os fungos micorrízicos, que serão abordados em detalhes nos capítulos 9 e 10.

Os biófagos são classificados em: microbióvoros (que se alimentam de micróbios, tendo, como exemplos, amebas, ácaros, nematóides), fungívoros (que se alimentam de fungos, tendo, como exemplos, ácaros, nematóides), fitófagos (que se alimentam de plantas, tendo, como exemplos, insetos e, com destaque, nematóides, importantes parasitas vegetais), e carnívoros (e.g., nematóides, aranhas).

Os saprófagos formam a base da quimiorganotrofia, como já mencionado, relacionada com a decomposição da matéria orgânica, podendo ser classificados em:

a) detritívoros – alimentam-se de detritos vegetais em vários estádios de decomposição (e.g., vários tipos de organismos micro e macroscópicos);

b) cadavéricolas – alimentam-se de carne podre/animais mortos (e.g., larvas de insetos);

c) coprófagos – alimentam-se de excrementos (e.g., bactérias, fungos, pequenos artrópodes e coleópteros).

Outros tipos de classificação são propostos para os quimiorganotróficos. Winogradsky denominou de autóctones os organismos que crescem vagarosamente (baixa taxa de crescimento) em solos contendo substratos não facilmente oxidáveis e, zimógenos, os que mostram picos de atividade quando resíduos frescos são adicionados ao solo. Dados da literatura revelam que uma mesma espécie pode ser considerada zimógena ou autóctone. Os conceitos de seleção r e k , aplicados à ecologia geral, também podem ser aplicados aos organismos do solo. A seleção r é relacionada com locais com abundância de substrato; assim, os organismos selecionados por esses *habitats* têm crescimento rápido, são menos eficientes na utilização de substratos complexos e utilizam substratos simples e prontamente disponíveis. A seleção k ocorre em *habitats* com pouco substrato; assim, os organismos selecionados têm geralmente moderada taxa de crescimento, investem no incremento dessa taxa de crescimento por unidade de alimento, ou seja, são mais eficientes na utilização de substratos e são capazes de usar substratos mais complexos e diversos. Outros termos adotados são oligotróficos e copiotróficos, respectivamente, para organismos adaptados a baixas e a altas concentrações de substratos.

A biota do solo inclui representantes de todos os domínios e reinos. Na **tabela 2.3**, encontram-se os números totais de espécies descritas nas principais categorias taxonômicas de plantas e de organismos do solo, considerando aquelas com maior número de espécies. O número mais elevado de espécies ocorre no reino Animalia, cerca de 10 milhões. No entanto, vários grupos de organismos, principalmente os de menor tamanho, podem ter um número muito maior do que o atualmente conhecido. Por exemplo, no Reino Animalia, estima-se que existam cerca de 80 milhões de insetos e 500.000 nematóides. Os números reais de organismos microscópicos como bactérias (Archaea, Bacteria), fungos (Fungi) e protozoários (Protoctista) podem ultrapassar de 10 a 100 vezes os números de espécies descritas atualmente: estima-se que existam 1,5 milhão de espécies de fungos e mais de 100.000 protozoários. A maior parte das espécies desconhecidas localiza-se nas florestas tropicais que contêm a maior diversidade do planeta, cerca de 50% do total de espécies, mas que ainda foram pouco pesquisadas. Entre os *habitats* terrestres, o solo é o que contém maior diversidade devido a sua natureza dinâmica, heterogênea e complexa. No entanto, esses atributos que contribuem para maior diversidade também representam uma das principais limitações para sua avaliação, como será apresentado no capítulo 3. Observações ao microscópio mostraram que o número de células viáveis excedia em várias ordens de magnitude o número de células cultiváveis, indicando que a porcentagem de células microbianas que podiam ser cultivadas não era representativa. Novas técnicas e métodos estão sendo desenvolvidos com os avanços da Biologia Molecular, no sentido de detectar a diversidade real do solo e levando à descoberta de novas espécies, principalmente de microrganismos. Törsvik et al. (1994), utilizando técnica de reassociação do DNA extraído do solo (ver capítulo 3) mostraram que havia uma diversidade de espécies bacterianas 200 vezes maior que a detectada pelas técnicas convencionais que avaliam as bactérias crescidas em meio de cultura, o que correspondeu até a 10.000 espécies por 100 gramas de solo. O “National Center for Biotechnology Information” (NCBI) (EUA) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) foi criado em 1988 como um recurso nacional de informação sobre biologia molecular e base de dados pública.

Tabela 2.3. Número de espécies descritas nas principais categorias taxonômicas de plantas e de organismos do solo, considerando, de modo geral, as categorias com maior número de espécies. Fonte: Margulis and Schwartz, 1998; National Center for Biotechnology Information: (NCBI-<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 5 de janeiro de 2005); Rappé and Giovannoni, 2003; Belinger et al., 1996-2005; Platnick, 2000. Moreira et al., 2006 (eds).

Categorias Taxonômicas* (número total de filós existentes) (exemplos de organismos do solo/nomes vulgares)	Nº de espécies descritas
Domínio Eucarya	
Reino Plantae (12 Filos)	255.000
Filo Bryophyta (musgos)	10.000
Filo Hepatophyta (hepáticas)	6.000
Filo Filicinophyta (fetos, pteridófitas)	12.000
Gimnospermas	
Filo Cycadophyta (cicadáceas)	185
Filo Ginkgophyta (ginko biloba)	1
Filo Coniferophyta (coníferas)	550
Filo Gnetophyta (gnetófitas)	70
Filo Anthophyta (angiospermas)	235.000
Monocotiledôneas	65.000
Dicotiledôneas	130.000
Reino Animalia (37 Filos)	10.000.000
Filo Tartigrada** (tartigrados)	750
Filo Mollusca**	99.000
Classe Gastropoda** (lesmas, caramujos e caracóis) (maior classe dos moluscos)	35.000-40.000
Filo Annelida** (minhocas, enchytraeideos, sanguessugas)	15.500
Classe Polychaeta	9.000
Classe Oligochaeta	6.000
Classe Hirudínea	500
Filo Crustácea** (>6 classes)	45.000
Classe Malacostraca** (inclui Ordem Decapoda- camarão, lagosta, caranguejo, krill)	25.000
Ordem Isopoda (tatuzinhos de jardim)	>11.000
Filo Mandibulata (Arthropoda)	
Classe Hexapoda (Insecta)	900.000
Ordem Thysanoptera (tripes)	6.000
Ordem Thysanura (traças)	700
Ordem Coleoptera (besouros)	350.000
Ordem Hemiptera (percevejos, cigarrinhas, piolho-verde)	71.000
Ordem Homóptera (cigarras, pulgões, afideos, cochonilhas)	32.800
Ordem Isoptera (cupins)	2.800
Ordem Hymenoptera (formigas, vespas, marimbondos, abelhas mamangavas)	115.000
Família Formicidae (formigas)	11.826
Ordem Blattoptera (baratas)	4.000
Ordem Dermaptera (lacrainhas, tesourinhas)	1.800
Ordem Orthoptera (gafanhotos, grilos, cigarras)	23.000
Ordem Collembola	7.500
Ordem Diplura (japigídeos)	659
Classe Myriapoda	15.162
Ordem Diplopoda (milípodas, piolhos-de-cobra)	10.000

Continua...

22 Capítulo 2 · Os Organismos do Solo

...conclusão	
Ordem Chilopoda (centopéias)	2.500
Classe Symphyla	200
Classe Pauropoda	700
Filo Chelicerata** (3 classes)	75.000
Classe Arachnida (11 ordens)	93.455
Ordem Palpigrada (micro-escorpiões)	80
Ordem Acari (carrapatos, ácaros)	45.000
Ordem Pseudoscorpionida (pseudoscorpiones)	3.235
Ordem Aranae (aranhas)	38.884
Ordem Scorpionida (escorpiões)	1.100
Filo Gastrotricha** (gastrotríqueos)	400
Filo Acanthocephalla** (vermes)	1.000
Filo Rotifera** (rotíferos)	2.000
Filo Nemertina** (vermes)	900
Filo Nematoda (nematóides)	15.000
Filo Platyhelminthes** (vermes, planárias)	25.000
Reino Protocista (30 Filos)	número não determinado
Filo Rhizopoda (protozoário-amebas e bolores)	Número não determinado
Filo Dinomastigota** (dinoflagelados)	4.000
Filo Ciliophora (protozoários ciliados)	10.000
Filo Discomitochondria (protozoários flagelados e zooflagelados)	800
Filo Diatomacea** (diatomáceas)	10.000
Filo Oomycota (oomicetos)	centenas de espécies
Filo Rhodophyta (algas-vermelhas)	4.100
Filo Chlorophyta (algas-verdes)	16.000
Filo Chytridiomycota	1.000
Reino Fungi (4 Filos)	60.000
Filo Zycomycota	1.100
Filo Basidiomycota	22.250
Filo Ascomycota	30.000
Filo Glomeromycota	160
Domínio Archaea** (4 Filos)	844
Domínio Bacteria** (52 Filos)	35.747

*Considerando as categorias taxonômicas do mais alto até o mais baixo nível: Domínio, Reino, Filo, Classe, Ordem, Família, Gênero, Espécie. Classificação dos Procariotos (Domínios Archaea e Bacteria) de acordo com Woese et al. (1990). Reinos de Eucarya classificados de acordo com Margulis and Schwartz, 1998.

**Inclui organismos aquáticos e terrestres.

Na base de dados moleculares do NCBI, estavam disponíveis, em janeiro de 2005, seqüências de 2.460 espécies de Archaea e de 48.088 espécies de Bacteria. Quando organismos não cultiváveis foram excluídos da base de dados, os números diminuíram para 844 e 35.747 espécies (incluindo não classificados e não especificados), mostrando quão úteis as técnicas moleculares estão sendo para revelar a biodiversidade inacessível e, portanto desconhecida. Os números nessa base de dados aumentam exponencialmente dia a dia, assim, muitas espécies de microrganismos, tanto cultiváveis como não cultiváveis, serão ainda reveladas por sua constituição genética. As técnicas moleculares também estão sendo aplicadas na caracterização dos organismos macroscópicos eucariotos tornando-se uma ferramenta útil para revelar relações filogenéticas que contribuam para sua classificação. No entanto, a classificação dos organismos eucariotos ainda é baseada principalmente em características morfológicas. Já nos procariotos, as características moleculares são imprescindíveis para sua identificação e classificação.

2.2. Classificação dos seres vivos

Desde Linnaeus, a classificação dos seres vivos tem sofrido várias modificações (**Tabela 2.4**), procurando refletir as relações filogenéticas entre as espécies, ou seja, considerando suas relações evolutivas. Recentemente, ferramentas da Biologia Molecular têm possibilitado classificar filogeneticamente os organismos, principalmente os microscópicos, com maior segurança. Isto foi possível graças à descoberta dos cronômetros moleculares (Kimura, 1983), que são, basicamente, moléculas altamente conservadas, universais (i.e. ocorrem em todos os seres vivos) e não afetadas por mudanças ambientes (Woese, 1991). As moléculas de RNA ribossômico, localizadas nos ribossomos (sítios de síntese de proteínas), são consideradas atualmente os mais úteis cronômetros moleculares porque são grandes, de diferentes tamanhos, (**Figura 2.1**), e que contêm considerável informação genética. Note-se que comparadas ao número total de pares de bases do DNA, são relativamente pequenas.

Tabela 2.4. Histórico dos sistemas de classificação dos seres vivos (Adaptada de Pelczar, 1997).

Sistema de classificação	Reinos	Organismos incluídos
Linnaeus (1753)	Plantae Animalia	Bactérias, fungos, algas e plantas. Protozoários e animais superiores.
Haeckel (1865)	Plantae Animalia Protista	Algas multicelulares e plantas. Animais. Microorganismos, incluindo bactérias, protozoários, algas, bolores e leveduras.
Whittaker (1969)	Plantae Animalia Protista Fungi Monera	Algas multicelulares e plantas. Animais. Protozoários e algas unicelulares. Bolores e leveduras. Todas as bactérias (procariotos).
Woese (1977)	Archaeobacteria Eubacteria Eucaryota	Bactérias que produzem gás metano, requerem níveis elevados de sais ou temperaturas muito altas. Todas as outras bactérias, incluindo as mais familiares aos microbiologistas, tais como as causadoras de doenças, as do solo e as da água e fotossintéticas. Protozoários, algas, fungos, plantas e animais.

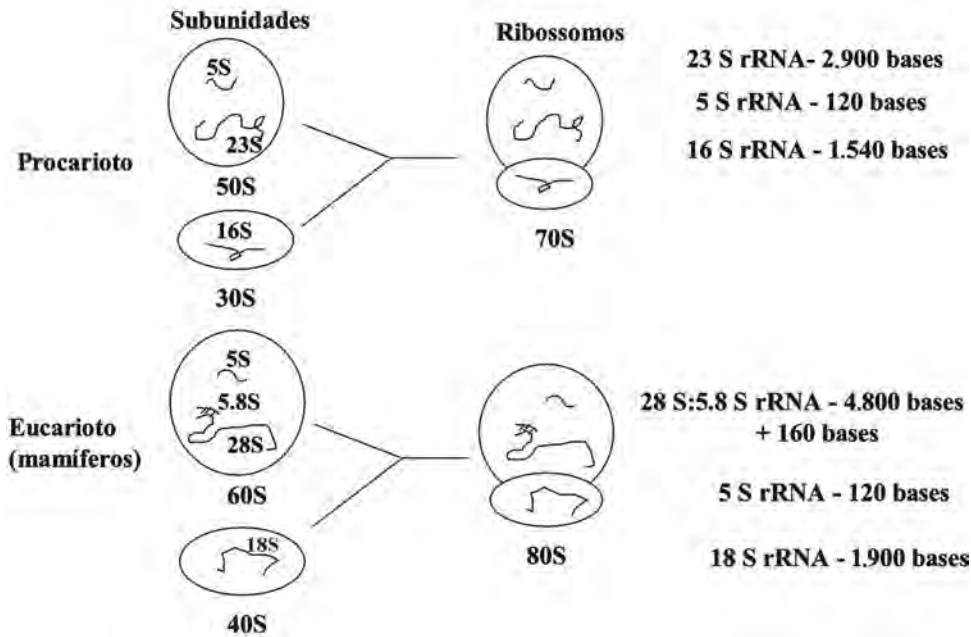


Figura 2.1. Ribossomos de eucariotos e de procariontes com suas respectivas subunidades e rRNAs, com número de bases em cada um deles.

Por exemplo, *Escherichia coli*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*, *Homo sapiens* e *Zea mays* têm respectivamente: 4×10^6 , $1,35 \times 10^7$, $1,65 \times 10^8$, $2,9 \times 10^9$ e $5,0 \times 10^9$ pares de bases no DNA completo. No entanto, a maior parte do DNA, principalmente nos organismos superiores, é, atualmente, considerada “sem utilidade”, pois não codifica para proteínas ou RNA. O DNA de *Escherichia coli*, por exemplo, poderia codificar cerca de 3.300 proteínas, mas a célula do *Escherichia coli* contém 2.200 proteínas e mRNAs. Os fragmentos de DNA (genes), portanto, que codificam as moléculas de RNA ribossômico (de igual tamanho, mas com seqüência de bases complementares), embora relativamente pequenas, representam informação genética valiosa. Além disso, são fáceis de isolar e amplificar, isto é, multiplicadas em quantidades relativamente grandes. Assim, o seqüenciamento das bases da molécula inteira ou de sua parte possibilita comparações entre diferentes organismos como as apresentadas nas **Figuras 2.2 e 2.3.A e B**, que mostram árvores filogenéticas universais englobando os principais grupos de procariontes (Archaea e Bacteria) e eucariotes (Eucarya); quanto maior a distância vertical onde linhas paralelas horizontais se encontram na árvore, maior a distância evolutiva entre os grupos a elas relacionados.

A descoberta das Archaeobacteria (Balch et al., 1979; Woese et al., 1978) trouxe uma nova perspectiva para as clássicas divisões do mundo vivo. Esses trabalhos demonstraram que os procariontes eram, na verdade, um grupo altamente polifilético, ou seja, com grande diversidade evolutiva, resultante dos 3,5 bilhões de anos desde que o primeiro ancestral bacteriano surgiu na Terra. É interessante notar que a diversidade filogenética entre Archaea e Bacteria (organismos predominantemente microscópicos) é muito maior que entre grupos de Eucarya (Figura 2.2), o que justifica seu tratamento como taxa distintos. Como

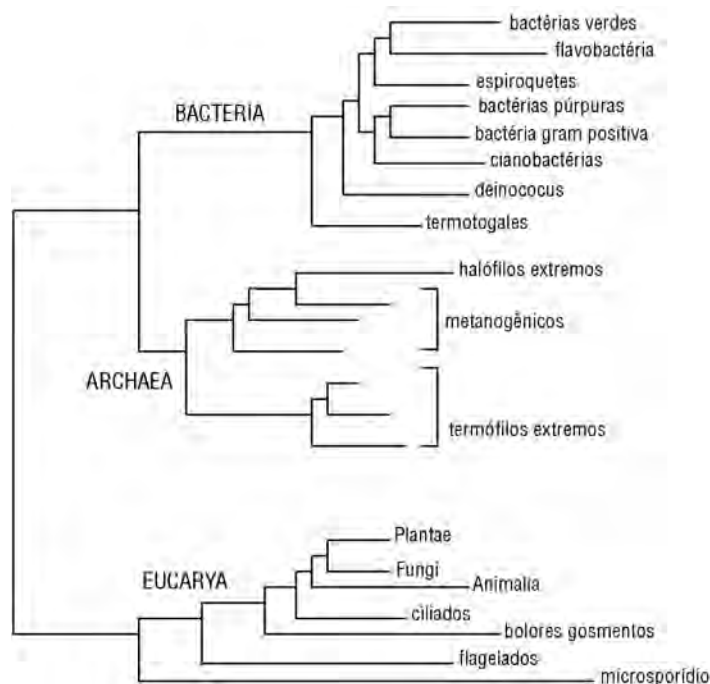


Figura 2.2. Árvore filogenética universal baseada em seqüências de rRNA da menor subunidade ribossomal, respectivamente 16S nos procariotos e 18 S nos eucariotos. (Woese, 1991.)

exemplo, podemos verificar que os fungos e o homem (Eucarya) diferem muito menos em termos evolutivos do que bactérias do gênero *Streptococcus* (Bacteria gram positivas com baixo conteúdo de citosina e guanina/C+G) e bactérias metanogênicas (Archaea que produzem metano). Assim, sugeriu-se que as subdivisões de Prokarya, Archaeobacteria e Eubacteria fossem elevadas ao mesmo nível taxonômico de Eucaryota. Posteriormente, Woese et al. (1990) propuseram elevar ao nível de Domínio esses três taxa, renomeando-os Archaea, Bacteria e Eucarya. Embora não aceita por alguns autores (e.g. Cavalier-Smith, 1998, 2004; Margulis & Schwartz, 1998), tal classificação dos procariotos é a adotada pela última edição do "The Prokaryotes" (Dworking, 1999-2005, <http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm>). O sistema descrito em Cavalier-Smith (2004) compreende seis Reinos: Bacteria, Chromista, Protozoa, Fungi, Plantae e Animalia. O sistema de Margulis & Schwartz (1998) reconhece a principal divisão entre os organismos do planeta separando-os em dois super-Reinos: Prokarya (Prokaryotae) e Eucarya (Eucaryotae). No entanto, como mencionado, não reconhece que as diferenças entre Bacteria, Archaea e Eucarya possam elevá-los à mesma categoria taxonômica e, assim, divide os organismos em cinco Reinos, sendo que os Procariotos compõem um único Reino dividido em dois sub-Reinos, e os Eucariotos são divididos em quatro Reinos: Protocista, Animalia, Fungi e Plantae. Neste livro, adota-se a classificação de Woese et al. (1990) para os procariotos e a de Margulis & Schwartz (1998) para os eucariotos (**Tabela 2.5**), mas considera-se em Fungi a adoção da classificação de Cavalier-Smith com modificações feitas pelos micologistas.

26 Capítulo 2 · Os Organismos do Solo

Tabela 2.5. Sumário dos Reinos segundo Margulis & Schwartz (1998).**Super-Reino PROKARYA (PROKARYOTAE)**

Células anucleadas (procariotas). Organização genética cromonêmica, ultra-estruturalmente visível como nucleóides. Transferência de células para célula de genóforos, isto é, cromonema (réplicons grandes) e de plasmídeos (e outros réplicons pequenos). Lipídios de membrana ligada por éster ou éter (derivado de isoprenóide), sem esteróides, fusão citoplasmática ausente. Motilidade de motor flagelar rotatório. Conceito de ploidia inaplicável.

Reino BACTERIA (PROKARYOTAE, PROCARYOTAE, MONERA)

Organização celular bacteriana.

Sub-Reino ARCHAEA

Metanogenes, termoacidófilos, halófilos e provavelmente algumas bactérias gram-positivas.

Sub-Reino EUBACTERIA

Bactérias gram-negativas e a maioria das outras. Modos metabólicos variados.

Super-Reino EUKARYA (EUKARYOTAE)

Células nucleadas (eucariotas), todas evoluídas de simbioses bacterianas integradas. Organelas envolvidas por membranas. Organização genética cromossômica. Motilidade intracelular, baseada em microfilamentos e microtúbulos (actina, miosina, tubulina-dineína-cinesina). Centros de organização de microtúbulos. Fusão global da célula (cariogamia). Membranas flexíveis portadoras de esteróides (por exemplo, colesterol, ergosterol). Ciclos de fertilização e meiose forma a base dos sistemas genéticos mendelianos. Os níveis de ploidia variam.

Reino PROTOCTISTA (Hogg, 1860)

Organismos mitóticos capazes de motilidade celular interna (isto é, ciclose, fagocitose, pinocitose). Muitos com motilidade de undulipódios. Fusão binária ou múltipla. Meiose e ciclos de fertilização ausentes ou detalhes únicos ao grupo. Fotoautótrofos, heterótrofos ingestivos e absorptivos.

Reino ANIMALIA

Embrião denominado blástula (diploide) formado após a fertilização do óvulo por espermatozóide (fusão de anisogametas haplóides – células cariogâmicas que diferem em tamanho). Fêmeas cedem mitocôndrias ao zigoto na citogamia. A meiose produz gametas. Diploides. A maioria é de heterótrofos ingestivos; alguns são heterótrofos absorptivos.

Reino FUNGI

Fusão celular ou de hifas. Meiose zigótica para formar propágulos resistentes (esporos). Ausência de undulipódios em todos os estádios. Haplóides. Heterótrofos absorptivos.

Reino PLANTAE

Embrião diploide matematicamente retido, formado da fusão de núcleos gametas mitoticamente produzidos. Meiose esporogênica produz macho (anterídio; planta haploide produtora de anterozóides) ou fêmea (arquegônio; planta haploide produtora de oosferas). Gametas formados em anterídio e arquegônio e fertilizados em arquegônio. Gerações alternadas de organismos haplóides e diploides. A maioria é de fotoautótrofos.

Nota: Para os táxons mais altos (Prokarya, Eukarya, Bacteria, Protoctista, Fungi, Animalia e Plantae), descrições técnicas sucintas acompanham a introdução de cada uma das suas seções.

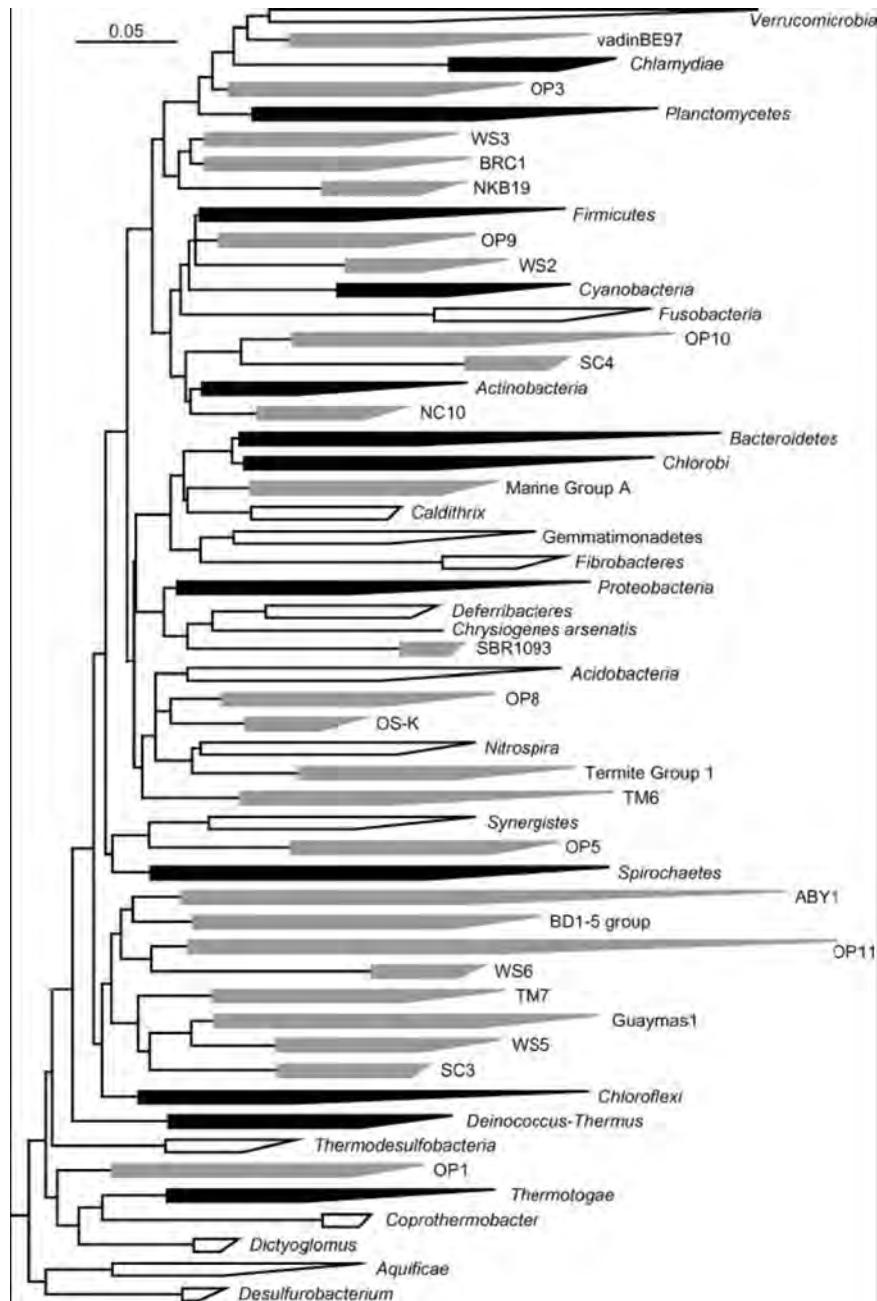
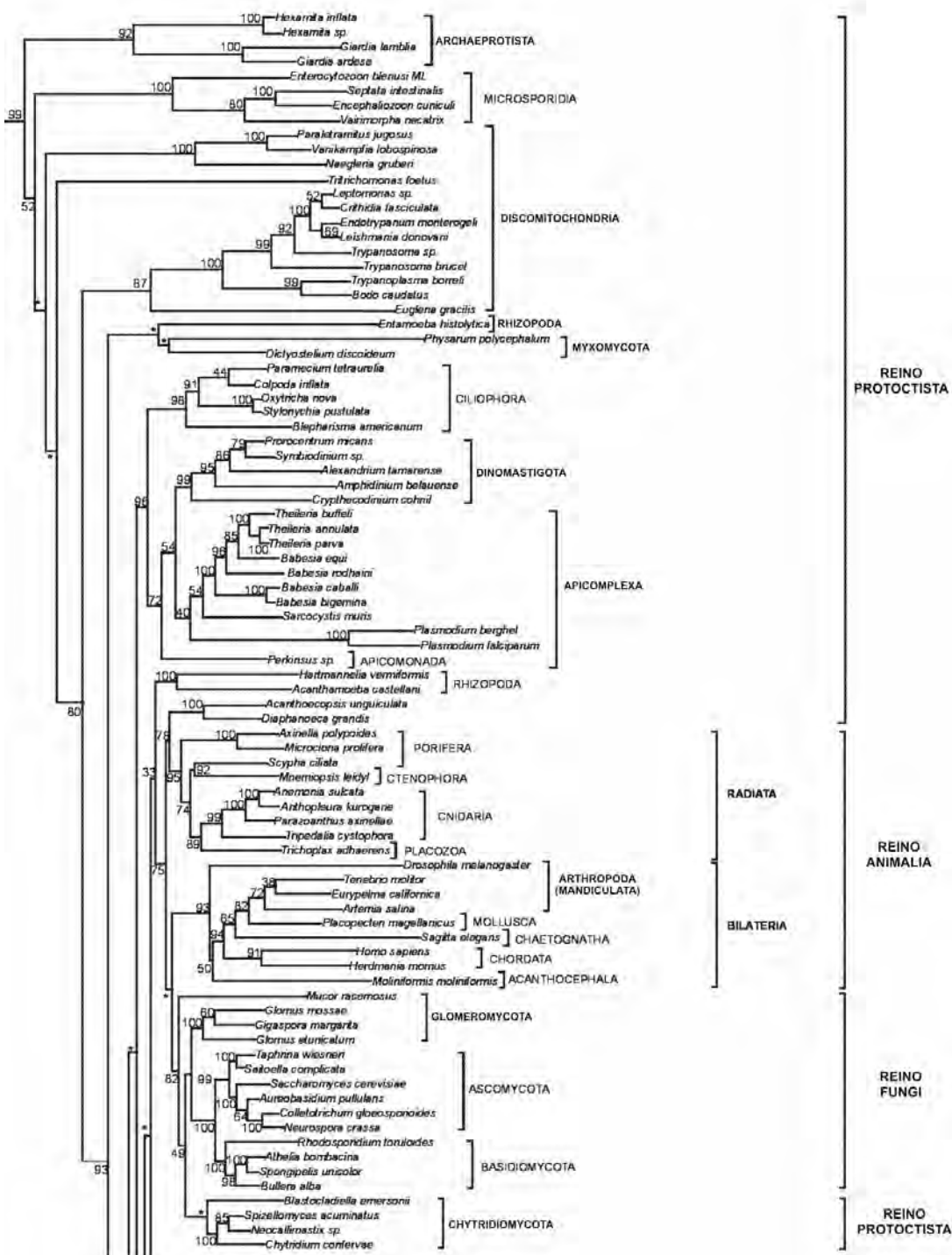


Figura 2.3A. Árvore filogenética mostrando os principais filos do Domínio Bacteria. Os ramos pretos mostram os 12 filos originais descritos por Woese (1987). Os ramos brancos mostram os 14 filos com representantes cultiváveis conhecidos a partir de 1987. Os ramos cinza mostram os filos potenciais que só contêm organismos não cultiváveis. Este dendograma mostrando a distância evolucionária foi construído pela análise comparativa de cerca de 600 seqüências do gene 16S r DNA ribossomal usando o software ARB. (Rappé & Giovannoni, 2003.)



Continua...

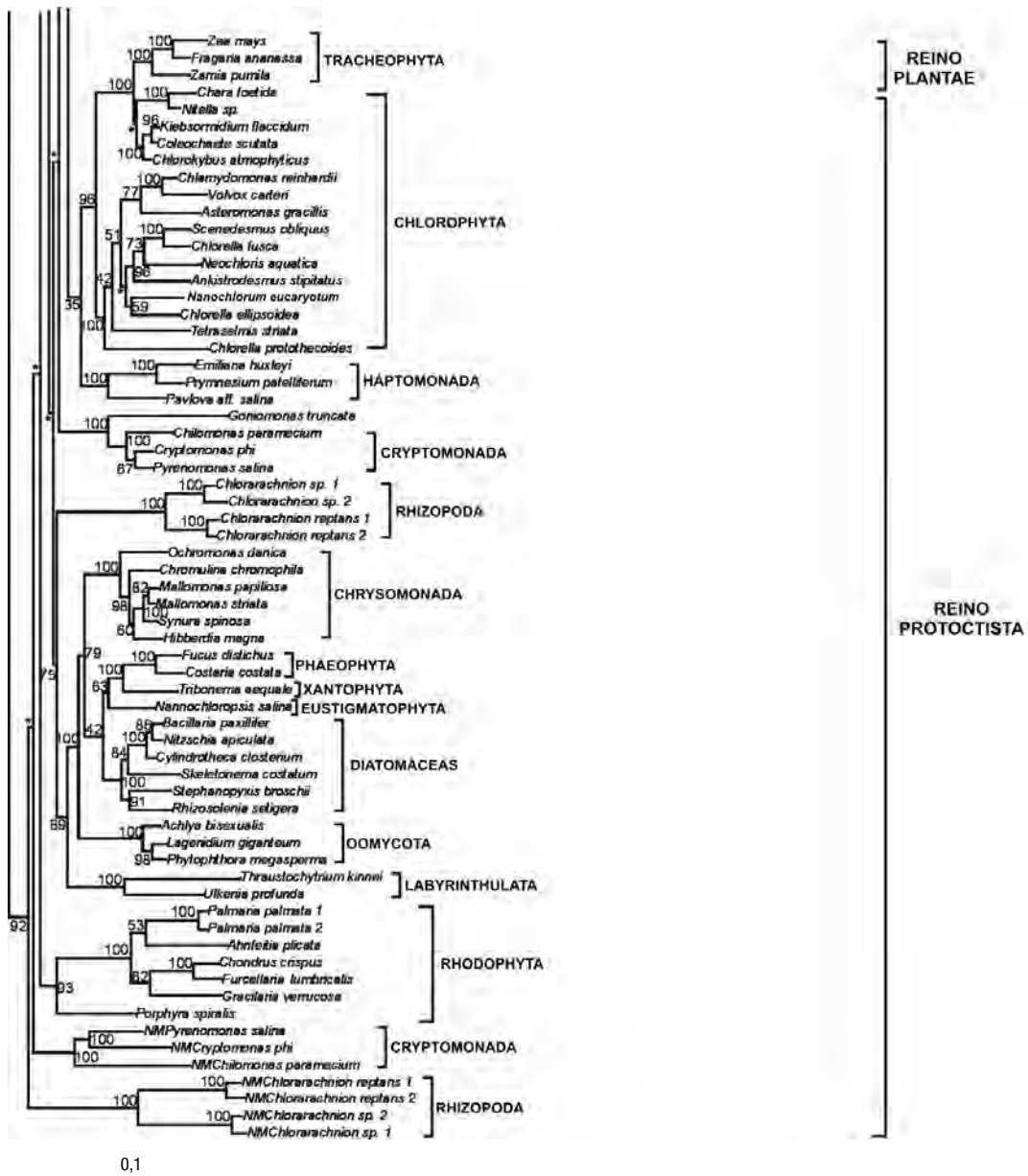


Figura 2.3B. Árvore filogenética de 150 eucariotos baseada em seqüências de 18S rRNA. A escala indica o comprimento do ramo correspondendo a 10 mudanças por 100 posições de nucleotídeos. (Modificada de Cavalier-Smith, 1993; reinos segundo Margulis & Schwartz, 1998.)

Características genéticas, morfológicas, bioquímicas e fisiológicas diferenciam os procariotos dos eucariotos (**Tabela 2.6**). A principal delas é a ausência de membrana nuclear nos procariotos. Entre eles, porém, também existem diferenças fundamentais: Archaea e Bacteria têm rRNA e composições da membrana celular específicas que também diferem das membranas eucarióticas (**Tabela 2.7**).

Tanto as células eucarióticas como as procarióticas são circundadas pela membrana plasmática que consiste em moléculas anfipáticas, i.e., moléculas que têm uma parte hidrofílica (solúvel em água) e outra hidrofóbica (insolúvel em água). Fosfolipídeos são as moléculas anfipáticas mais abundantes e componentes fundamentais das biomoléculas. Os fosfoglicerídeos são a classe principal de fosfolipídeos e consistem em cadeias de ácido graxo esterificado por dois ou três grupos hidroxila de molécula de glicerol (**Figura 2.4**). Como todas as membranas biológicas, a estrutura da plasmática é baseada numa dupla camada de fosfolipídeos, permeável a certos gases (O_2 e CO_2) e à água e impermeável à maioria das moléculas (açúcares, aminoácidos e íons inorgânicos). Proteínas localizadas na membrana plasmática, denominadas permeases, são responsáveis pela entrada e pela saída de moléculas nas células. Em geral, todas as membranas internas nos procariotos são conectadas à plasmática. Em algumas espécies, essa tem projeções chamadas mesossomos, principalmente nas bactérias gram-positivas. Algumas membranas internas fotossintéticas, denominadas vesículas tilacóides, presentes nas cianobactérias, podem ou não estar conectadas à membrana plasmática. Ao contrário das células procarióticas, as eucarióticas têm extensas membranas internas não conectadas à plasmática, as quais separam regiões específicas do resto do citoplasma, denominadas organelas. Exemplos de organelas dos eucariotos são: núcleo, mitocôndrias, retículo endoplasmático, vesículas de Golgi, peroxissomas, glioxissomos e cloroplastos (**Figura 2.5**). Cada organela desempenha funções específicas no crescimento e no metabolismo da célula e contém uma coleção específica de enzimas que catalisam reações químicas.

A composição da parede celular (externa à membrana plasmática), quando presente, é específica de cada grupo e também serve como característica de valor taxonômico. Baseando-se na parede celular os procariotos podem ser divididos em:

- a) mendosicutes (Mendosus = tendo falhas, imperfeições; cutes = pele) - têm parede com composição diversa dos outros procariotos, ou seja, sem o convencional peptideoglicano. Compreendem as Archaea;
- b) firmicutes (Firmus = firme, forte, durável, cutes = pele) – têm paredes celulares mais grossas e fortes, ou seja, indicando os gram-positivos;
- c) gracilicutes (Gracillis = fina, cutes = pele) – têm paredes celulares mais finas, ou seja, indicando gram-negativos;
- d) tenericutes (Tener = macia, tenra, cutes = pele) – indicam ausência de uma parede celular rígida.

Em Bacteria (**Figura 2.6**), a camada situada externamente à membrana plasmática (parede celular) é composta, principalmente, de peptideoglicano (também chamado mureína) (**Figura 2.7A**), cuja função é conferir força e rigidez à célula. As diferenças na composição química da parede celular dividem as bactérias em dois grandes grupos: gram-positivas e gram-negativas.

Tabela 2.6. Características diferenciais entre procariotos e eucariotos (Pelczar et al.,1997).

Característica	Procarioto	Eucarioto
- Material genético separado do citoplasma por membrana	não	sim
- Largura da célula ou diâmetro	0,2 a 2,0 μm	> 2,0 μm
- Mitocôndrias	ausente	presente
- Cloroplastos (em espécies fotossintéticas)	ausente	presente
- Retículo endoplasmático e complexo de Golgi	ausente	presente
- Vacúolos gasosos	formados por algumas spp.	ausente
- Inclusões de poli β hidroxibutirato	em algumas spp.	ausente
- Fluxo citoplasmático	Ausente	freqüente
- Habilidade de ingerir partículas de alimento insolúveis	ausente	presente em algumas spp.
- Flagelos, se presentes:		
Diâmetro	0,01 a 0,02 μm	ca. 0,2 μm
Seção transversal mostra arranjo de microtubos "9 + 2"	não	sim
- Esporos resistentes ao calor (endosporos)	em algumas spp.	não
- Ácidos graxos insaturados ou esteróis na membrana	raros	comuns
- Ácido murâmico na parede celular	Comum	ausente
- Habilidade de usar compostos inorgânicos como única fonte de energia	em algumas spp.	ausente
- Habilidade de fixar nitrogênio atmosférico	em algumas spp.	ausente
- Habilidade de dissimilar nitratos a nitrogênio gasoso	em algumas spp.	ausente
- Habilidade de produzir gás metano	em algumas spp.	ausente
- Sítio da fotossíntese, se ela ocorre	Extensões da membrana citoplasmática, tilacóides	grana de cloroplastos
- Divisão da célula ocorre por mitose	Não	sim
- Mecanismos de transferência de genes e recombinação, se ocorrem, envolvem gametogênese e formação de zigoto	não	sim
- Cromossomas:		
Forma	circular	linear
Número por célula	geralmente 1	geralmente >1
- Ribossomos:		
Localização na célula	dispersos no citoplasma	ligados ao retículo endoplasmático
- Constante de sedimentação (em unidades de Svedberg)	70S	80S*

*Exceto nas mitocôndrias e cloroplastos que têm ribossomos 70S do tipo procariótico

Tabela 2.7. Características diferenciais dos três domínios dos organismos vivos (Woese et al., 1990).

Domínio	Significado do termo grego	Características
Eucarya	Núcleo verdadeiro	Células eucarióticas; lipídeos da membrana celular predominantemente diésteres de ácido graxo com glicerol; ribossomos contendo rRNA do tipo eucariótico.
Bacteria	Pequeno bastão	Células procarióticas; lipídeos da membrana predominantemente diésteres de ácido graxo com glicerol; ribossomos contendo rRNA do tipo (eu) bacteriano.
Archaea	Primitivo	Células procarióticas; lipídeos da membrana predominantemente diéteres de glicerol com compostos isoprenóides ou tetraéteres com diglicerol; ribossomos contendo rRNA do tipo Archaea.

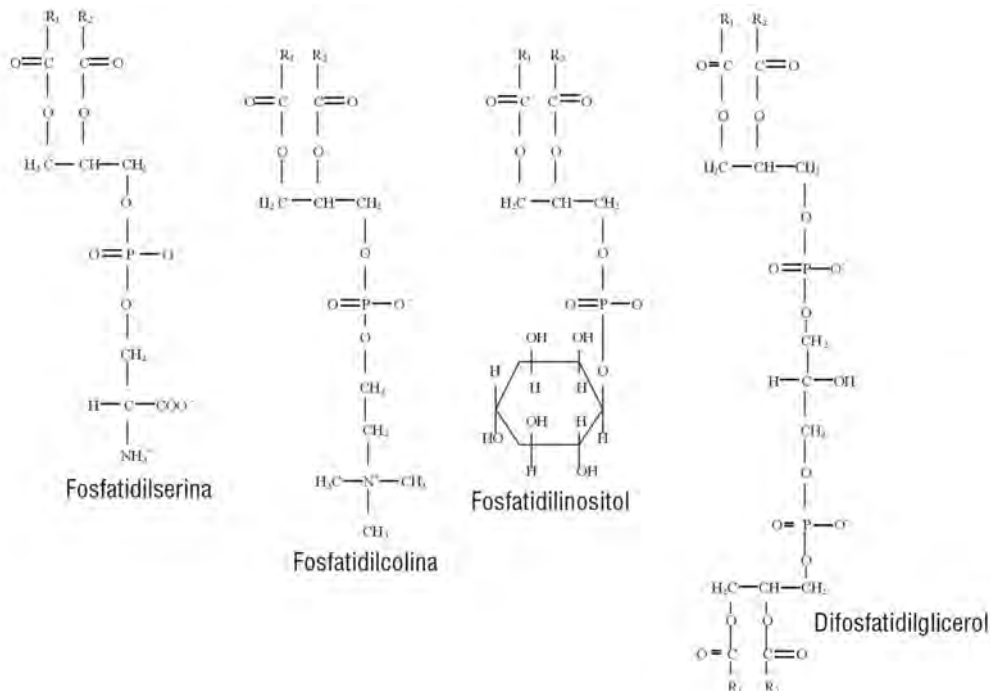


Figura 2.4. Estrutura de 4 fosfolipídeos encontrados comumente em membranas celulares. R1 e R2 representam cadeias de ácidos graxos que podem ser saturadas ou conter uma ou mais ligações duplas. Notar que o difosfatidilglicerol contém 4 ácidos graxos e é composto por duas moléculas de ácido fosfatídico ligadas a carbonos 1 e 3 de um glicerol central. Porções hidrofóbicas das moléculas são os R1 e R2; os demais blocos são a porção hidrofílica.

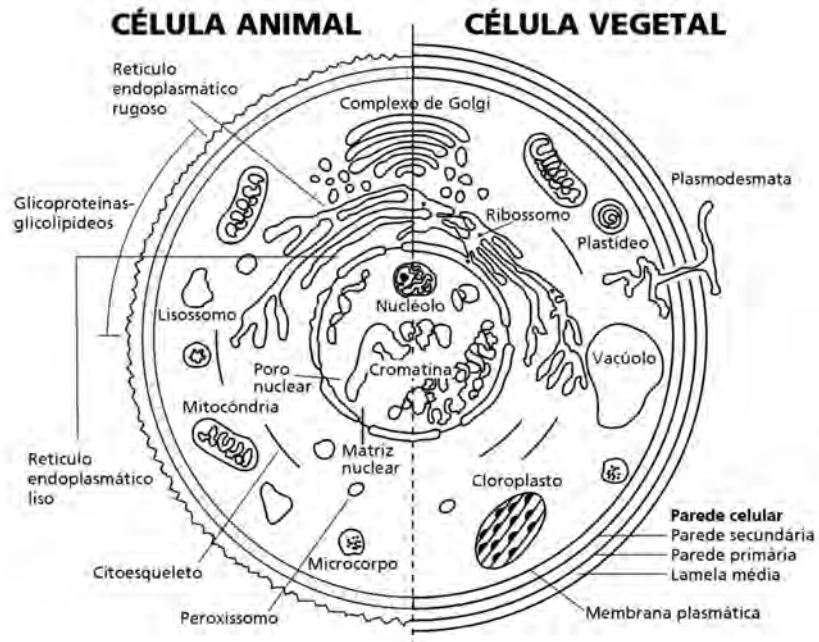


Figura 2.5. Representação esquemática de células eucarióticas animais e vegetais e de suas organelas.

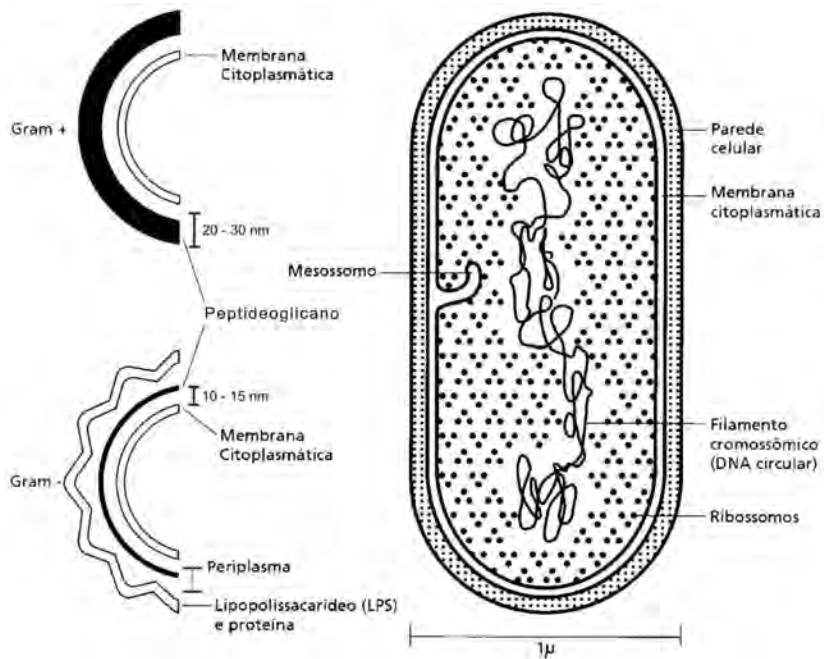


Figura 2.6. Representação esquemática de uma célula bacteriana de *Escherichia coli* (à direita) com detalhes (à esquerda) da parede celular de bactérias gram- e gram+.

34 Capítulo 2 · Os Organismos do Solo

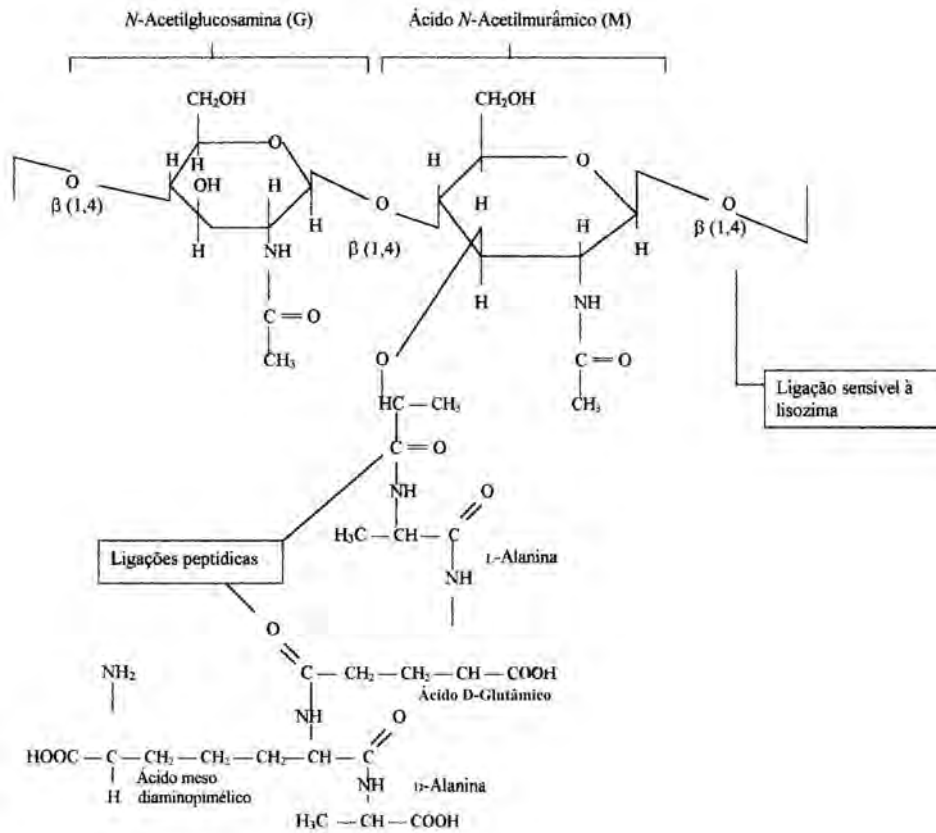


Figura 2.7A. Estrutura de uma das unidades (tetrapeptideoglicano) que se repetem no peptidoglicano da parede celular de *Escherichia coli* e na maioria das bactérias gram-negativas. Em algumas bactérias outros aminoácidos são encontrados.

Em adição ao peptidoglicano, as bactérias gram-positivas contêm polissacarídeos e/ou ácido teicóico (**Figura 2.7B**). A espessura da parede celular nas bactérias gram-positivas é maior que nas gram-negativas, sendo cerca de 20 a 30 nm nas primeiras e de 10 a 15 nm nas segundas. Nas gram-negativas existe ainda uma membrana externa (ausente nas gram-positivas) permeável a moléculas que possuam peso molecular até 1.000 (em alguns casos até 5.000), composta por proteína e lipopolissacarídeos (**Figura 2.8**) (**Figuras 2.9A, B**). O espaço entre a parede celular e a membrana plasmática (interna), denominado espaço periplasmático, é ocupado por proteínas secretadas pela célula e que compõem o periplasma. Essas proteínas estão envolvidas no transporte de substâncias e participam na aquisição de nutrientes. Espaços periplasmáticos são raramente observados em bactérias gram-positivas. O peptidoglicano é extremamente poroso e chega a preencher o espaço periplasmático. A identificação de Bactéria em gram-negativa e gram-positiva é feita pela exposição rápida (entre 1 e 5 minutos) e sucessiva das células aos corantes violeta de genciana, lugol e fucsina (10%), removendo-se cada um por lavagem em água corrente e usando álcool para remoção do lugol antes da água.

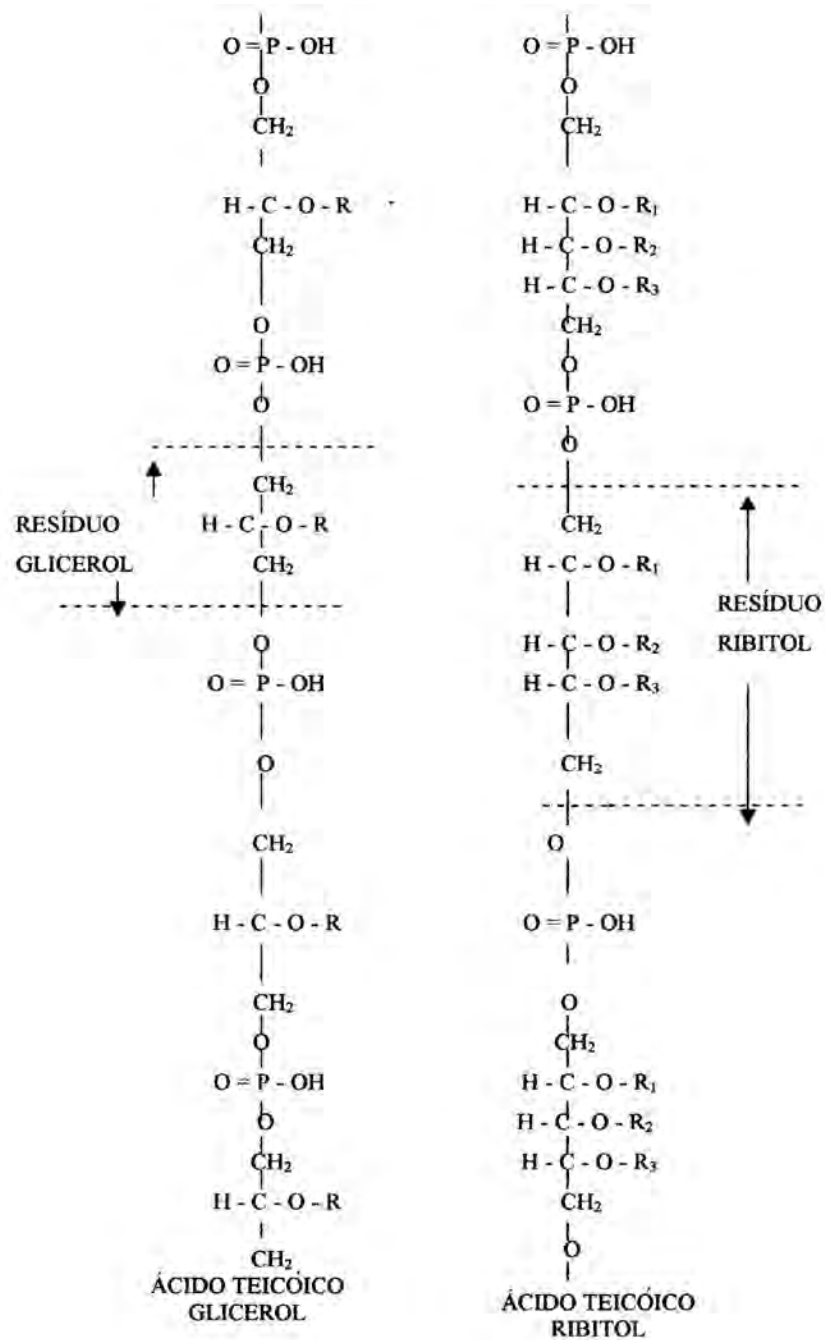


Figura 2.7B. Estrutura de ácidos teicóicos de parede celular bacteriana. No ácido teicóico glicerol, R pode ser alanina, glicose ou glicosamina. No ácido teicóico ribitol R1, pode ser glicose ou acetilglicosamina; R2 e/ou R3 pode ser alanina.

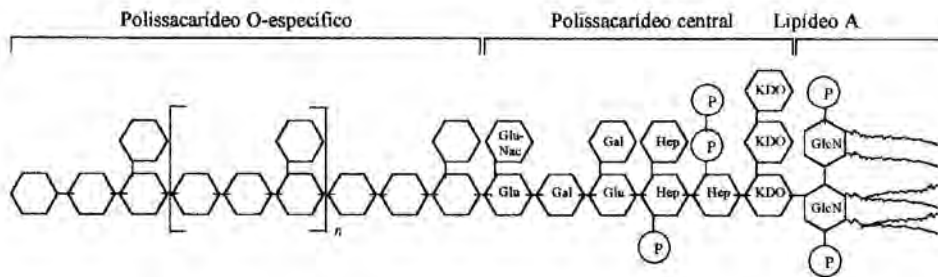


Figura 2.8. Estrutura do lipopolissacarídeo de bactéria gram-negativa. A química precisa do lipídeo A e os componentes do polissacarídeo variam entre espécies, mas a seqüência dos componentes principais (lipídeo A-KDO-centro O-específico) é geralmente uniforme. O polissacarídeo O-específico varia bastante entre espécies. KDO, ketodeoxioctonato; Hep, heptose; Glu, glicose; Gal, galactose; GluNac, N-acetilglucosamina; GlcN, Glicosamina. A porção lipídica A da camada de LPS pode ser tóxica a animais e compreende complexos de endotoxinas.

Tanto as gram-positivas como as gram-negativas absorvem o primeiro corante (cristal violeta) devido à ligação iônica entre os grupos básicos do corante e os grupos ácidos dos constituintes da membrana celular. O iodo do lugol penetra nos dois tipos de célula e forma um precipitado com o cristal violeta (retirando-o da proteína ou combinando-se com ele *in situ*). O álcool passa facilmente através da membrana celular nas gram-negativas, dissolvendo o complexo corante iodo, eliminando-o e deixando a célula incolor. Já nas células gram-positivas o álcool penetra com dificuldade e a maior parte do complexo permanece nas células que, assim, retêm sua coloração. A posterior coloração com fucsina (cor vermelha) faz as células gram-negativas visíveis pela cor vermelha e as gram-positivas permanecem arroxeadas.

2.3. Procariotos

2.3.1. Características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas

De acordo com a primeira edição do “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” (Krieg & Holt, 1984), os procariotos são definidos como: células isoladas ou em associações simples, com 0,2 a 10,0 μm na dimensão menor, formando um grupo definido pelas propriedades celulares e, não, dos organismos. Além disso, são habitantes de ambientes úmidos e predominantemente unicelulares, mas formas filamentosas, miceliais e colônias podem ocorrer.

Formas usualmente conhecidas de procariotos são os cocos, bastonetes (ou bacilos) e espirilos (vibriões), porém sua diversidade morfológica é bem maior como mostrado na **Figura 2.10**. Espécies mais abundantes entre as recuperadas do solo através de técnicas de cultivo, como as dos gêneros *Pseudomonas*, *Clostridium* e *Bacillus*, por exemplo, têm forma de bastonetes simples.

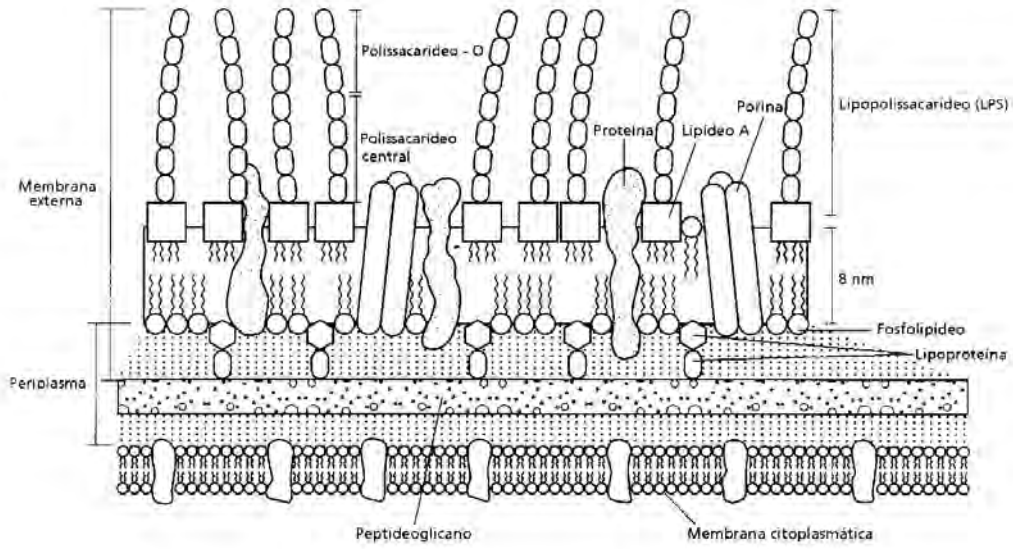


Figura 2.9A. Parede celular de bactérias gram-negativas: arranjo do lipopolissacarídeo, lipídeo A, fosfolípidos, porinas e lipoproteína.

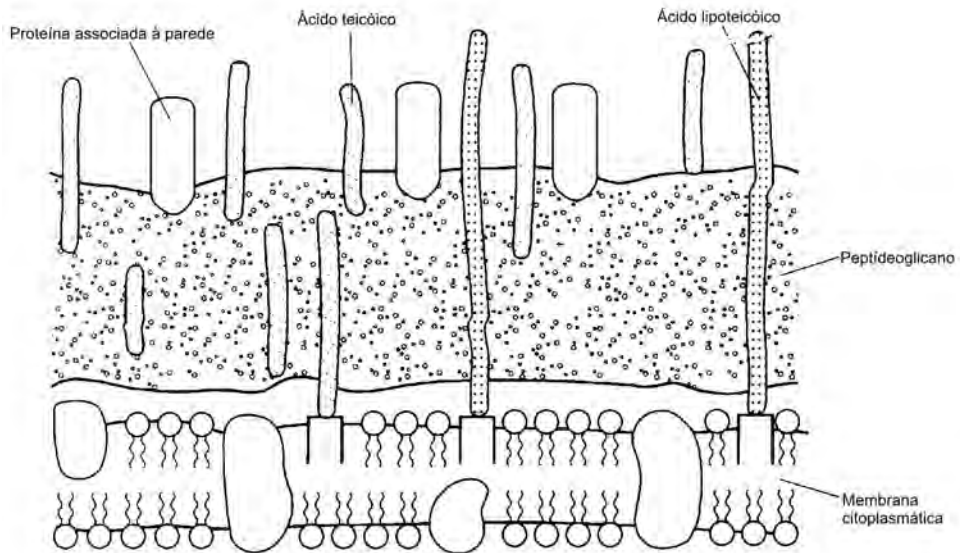


Figura 2.9B. Parede celular de bactérias gram-positivas.

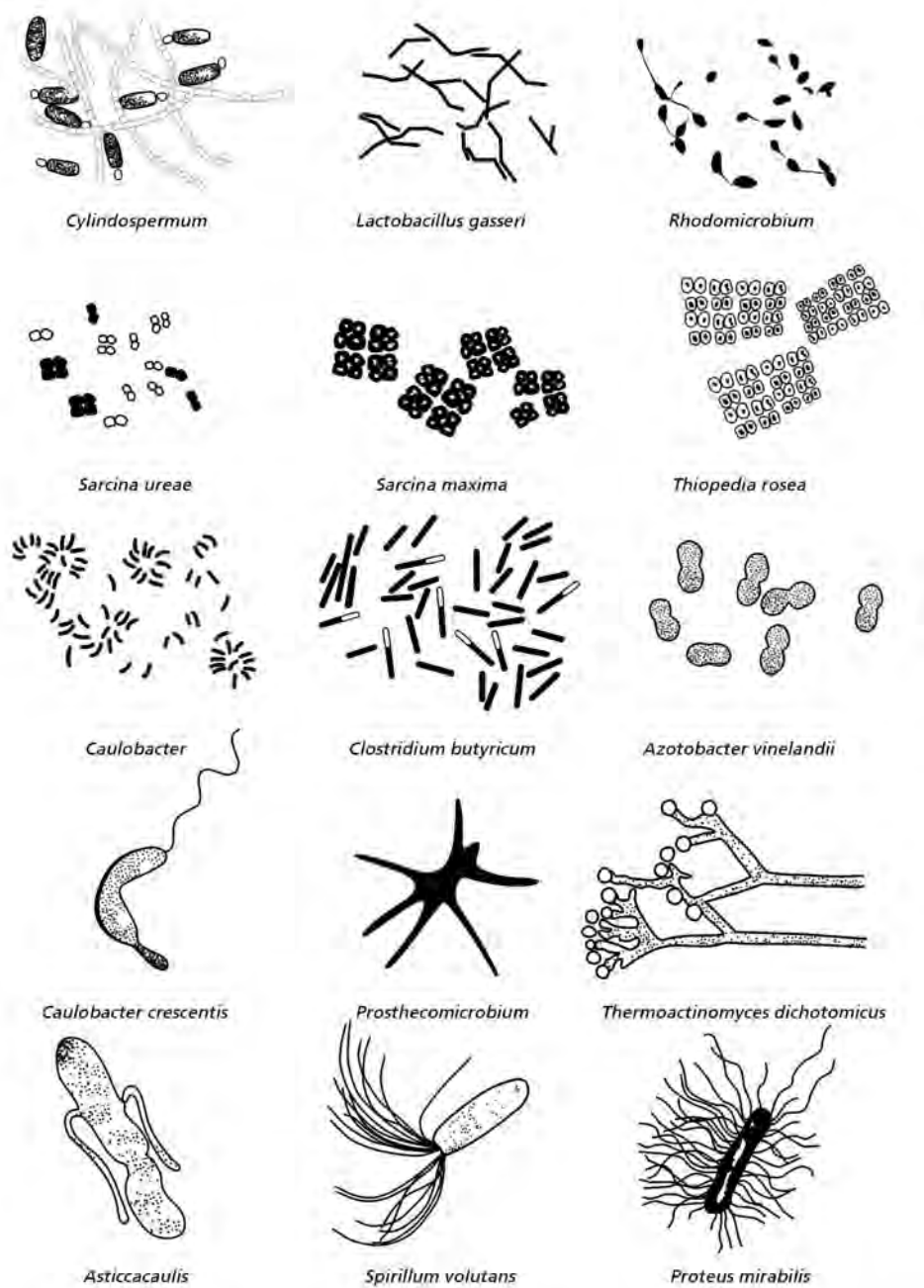
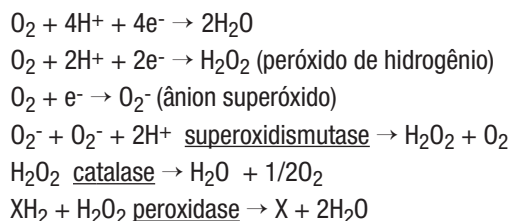


Figura 2.10. Exemplos de formas de bactérias (desenhos fora de escala. O tamanho normal varia de 0,2 a 10 μm).
(The Prokaryotes, 1991.)

A diversidade é uma característica marcante do grupo (**Tabela 2.8**) que os torna capazes de colonizar ambientes inacessíveis a eucariotos. Essa diversidade abrange não só características morfológicas, como bioquímicas e fisiológicas, que permitem vários modos de conversão de energia, utilização de ampla faixa de substratos e tolerância a extremos de condições ambientais. Um microrganismo de determinado genótipo é mais do que um “pacote” de enzimas codificadas por DNA e envoltas por uma membrana. Ele tem potencial de adaptar-se funcional e estruturalmente a mudanças de seu ambiente. Sua versatilidade é tamanha que, quando colocado sob condições seletivas apropriadas pode desenvolver novas propriedades tanto via ativação de genes crípticos, ou seja, genes que só se expressam em determinadas condições, como via seleção de mutantes em genes reguladores e funcionais.

A anaerobiose obrigatória é encontrada em cerca de vinte gêneros nos três Domínios, representados por fungos, ciliados, flagelados, metanogênicos (Archaea) e Bacteria, como *Clostridium* spp. produtores de esporos. No entanto, a maioria dos anaeróbios são procariotos. Nos procariotos, a anaerobiose ocorre em todos os tipos de metabolismo (**Tabela 2.9**). Os anaeróbios utilizam outros compostos como aceptores finais de elétrons (e.g., compostos orgânicos, NO_3^- , SO_4^{2-}), ao contrário dos aeróbios, que utilizam o oxigênio. A exposição ao oxigênio tem um efeito deletério aos anaeróbios, uma vez que eles não possuem as enzimas superoxidismutase, catalase e peroxidase que removem os compostos tóxicos H_2O_2 e O_2^- resultantes da utilização do O_2 como acceptor final de elétrons, como mostrado pelas equações a seguir:



A fototrofia – capacidade de utilizar energia luminosa para síntese de moléculas orgânicas complexas utilizadas para o crescimento e a manutenção – pode ser oxigênica ou anoxigênica, se ocorre ou não liberação de O_2 durante a fotossíntese, resultante da quebra da molécula de água (**Tabela 2.10**). Apenas as cianobactérias, assim como as plantas e as algas, realizam fotossíntese oxigênica. Os demais grupos de fototróficos convertem energia luminosa em energia química através de fotossíntese anoxigênica. Esses grupos são bastante diversos quanto ao tipo de pigmento, centro de reação fotossintética. A fotossíntese anoxigênica contribui pouco para a fixação global de carbono, cerca de 1%, no entanto, esses organismos são componentes importantes de ciclos biogeoquímicos do carbono e do enxofre.

A fixação de CO_2 pode ser realizada tanto por quimiolitotróficos como por fototróficos, anaeróbios e aeróbios, e litotróficos ou organotróficos, pelas vias: ciclo de Calvin (**Figura 2.11**), acetogênese (**Figura 2.12**), metanogênese e ciclo do ácido tricarbóxico (CAT) reverso (**Figura 2.13**). Além disso, muitos heterotróficos fixam CO_2 crescendo em substratos orgânicos por vários processos chamados anapleróticos, servindo para suprir intermediários drenados para processos biossintéticos.

Tabela 2.8. Diversidade em alguns caracteres de procarióticos e sua função.

Caráter	Tipos	Função
Forma da célula	Bastões, cocos, espirais, amóbia, ovóide, quadrada, estrelada, filamentososa, pedunculada.	Estratégia de adaptação ao meio ambiente (relação volume/superfície).
Grupamentos celulares	Pares, cadeias, aglomerados, pacotes cubóides, quadrados, planos, micélios, corpos de frutificação, rosetas, redes.	
Cápsulas	Poli-peptídeos, polissacarídeos (celulose, glicano, ácido colânico; poliuronídeos, polissacarídeos pneumocócicos (tipos II, III, XIX, XXXIV).	Interface entre a célula e o ambiente, determinando: a natureza de ligação a um substrato ou às outras células, o que entra e sai da célula e natureza do processo de transporte.
Parede celular	Sem parede. Gram-negativas (peptídeoglicano*, lipopolissacarídeos e proteínas). Gram-positivas (peptídeoglicano e ácido teicóico). Archaebacteria-vários: pseudopeptídeoglicano (ou pseudomuréina), heteropolissacarídeo, glicoproteína, proteína, heteropolissacarídeo sulfatado, nenhum.	Confere força e rigidez à célula.
Motilidade	Flagelos (vários tipos: peritríqueo, lofotríqueo, etc.), deslizando (mecanismo desconhecido), saltando.	Capacita o organismo a fugir de predadores e mover-se em direção a substrato.
Divisão celular	Fissão binária transversa, brotamento, extensão e fragmentação micelial, fissão múltipla.	Reprodução.
Estruturas de resistência	Endosporos, actinosporos, exosporos, akinetos, azotocistos, myxosporos, zoosporos e artrósporos.	Adaptação a condições ambientais desfavoráveis.

* Peptídeoglicano pode variar na composição de aminoácidos, estrutura tridimensional, comprimento de moléculas de glicano e peptídeo entre espécies

Tabela 2.9. Exemplos de diversidade catabólica nos procaríotos.

	Aeróbios		Anaeróbios	
	Litotróficos	Organotróficos	Litotróficos	Organotróficos
Fototróficos	cianobactérias	nenhum	Chlorobium	Rhodobacter
Quimiotróficos	Nitrosomonas	Pseudomonas	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	Clostridium

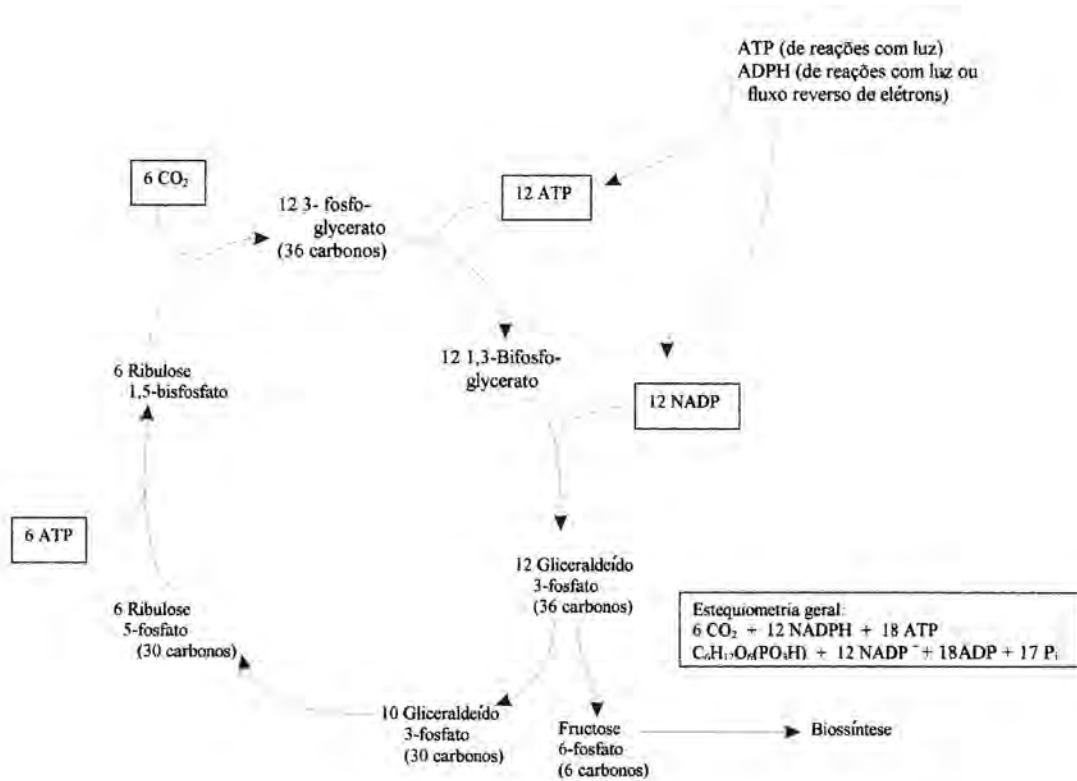


Figura 2.11. Ciclo de Calvin: para cada seis moléculas de CO₂ incorporadas, uma de frutose-6-fosfato é produzida.

Tabela 2.10. Grupos de procariotos fotossintéticos e suas características (Modificado de Overmann & Garcia Pichel, 2000).

Taxon	Modo Preferencial de Crescimento	Coleta de Luz *	Reação Fotoquímica
Filo de Chloroflexus (bactérias verdes filamentosas)	Anoxigênico Fotoorganotrófico (3)**	cis; BChl <i>c</i> , car	Centro de reação tipo II
Chlorobiaceae (bactérias verdes sulfurosas)	Aeróbico/Quimiorganotrófico *** Anoxigênico/Fotolitotrófico (15)	cis; BChl <i>c/d/e</i> , car	Centro de reação tipo I
α -Proteobacteria	Anoxigênico Fotoorganotrófico Aeróbico Quimiorganotrófico *** (31)	icm; BChl <i>alb</i> , car	Centro de reação tipo II
α -Proteobacteria Aeróbicos Fotossintéticos	Aeróbico Quimiorganotrófico (23)	BChl <i>a</i>	Centro de reação tipo II
β -Proteobacteria	Anoxigênico Fotoorganotrófico Aeróbico Quimiorganotrófico *** (4)	icm; BChl <i>a</i> , car	Centro de reação tipo II
γ -Proteobacteria (bactérias sulfurosas púrpuras)	Anoxigênico Fotoorganotrófico Aeróbico Quimiorganotrófico *** (31)	icm; BChl <i>alb</i> , car	Centro de reação tipo II
Chromatiaceae Ectothiorhodospiraceae	Anoxigênico fotolitotrófico (9)	---	Centro de reação tipo II
Hellobacteriaceae	Anoxigênico Fotoorganotrófico (5)	BChl <i>g</i> , car	Centro de reação tipo I
Cyanobacteria	Oxigênico Fotolitotrófico (>> 1000)	thy; Chl <i>a</i> + PBS ou Chl <i>b</i> , ou Chl <i>d</i> , car	Centro de reação tipo I + II
<i>Prochloron</i> , <i>Prochlorothrix</i>	Oxigênico Fotolitotrófico (2)	thy; Chl <i>alb</i> , car	Centro de reação tipo I + II
<i>Prochlorococcus</i>	Oxigênico Fotolitotrófico (1)	thy; Chl <i>a₂b₂</i> , car (PBS)	Centro de reação tipo I + II
<i>Acanthochloris</i>	Oxigênico Fotolitotrófico (1)	thy; Chl <i>a, d</i> car (PBS)	Centro de reação tipo I + II
Halobacteria	Aeróbico Quimiorganotrófico (3)	Membrana Púrpura Bacteriorodopsina	Bacteriorodopsina

* BChl = bacterioclorofila, car = carotenóides, Chl = clorofila, cis = clorossomas, icm = membranas intracelulares, PBS = ficolibisomas, thy = tilacóides

** Número de espécies fotossintéticas descritas entre parênteses

***Representantes não fototróficos nestes grupos

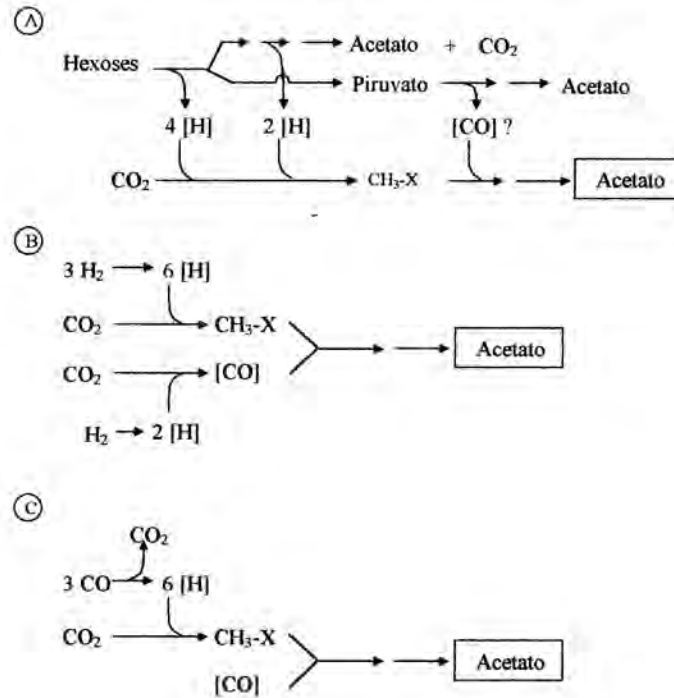


Figura 2.12. Principais rotas da formação de acetato – acetogênese – a partir de: (A) Hexoses, (B) $H_2 + CO_2$, (C) CO, CH_3-X .

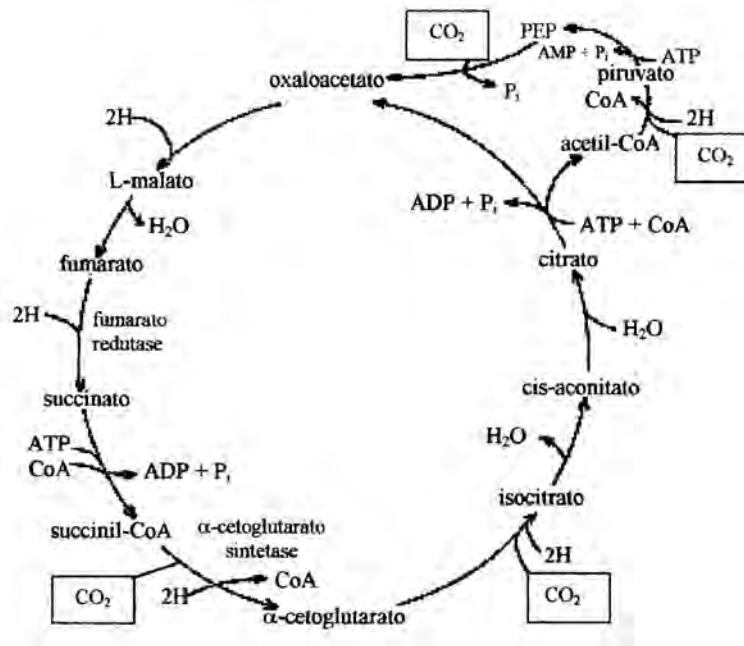


Figura 2.13. Ciclo do ácido tricarboxílico de Chlorobiaceae.

44 Capítulo 2 · Os Organismos do Solo

As principais vias de degradação da glicose são: Glicolítica ou Embden-Meyerhoff (EMP), Entner-Doudoroff (ED) e pentose-fosfato (PF) (Figuras 2.14 e 2.15). ED é restrita aos aeróbios; já EMP e PF ocorrem tanto em aeróbios como em anaeróbios. Outros processos relacionados ao ciclo do carbono incluem: a degradação de hidrocarbonetos (óleo, petróleo etc.), realizada, por exemplo, por espécies dos gêneros *Actinomyces*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Sarcina*, *Nocardia* e *Pseudomonas*, entre outros; a decomposição de celulose, realizada tanto por aeróbios como por anaeróbios e facultativos.

A metilotrofia, outro processo importante do ciclo do carbono, é a utilização de substratos de carbono sem ligações carbono-carbono, como metano, metanol e aminas metiladas, entre outros. Essas bactérias são ubíquas na natureza, ocorrendo tanto em sistemas aquáticos como em terrestres e representam o

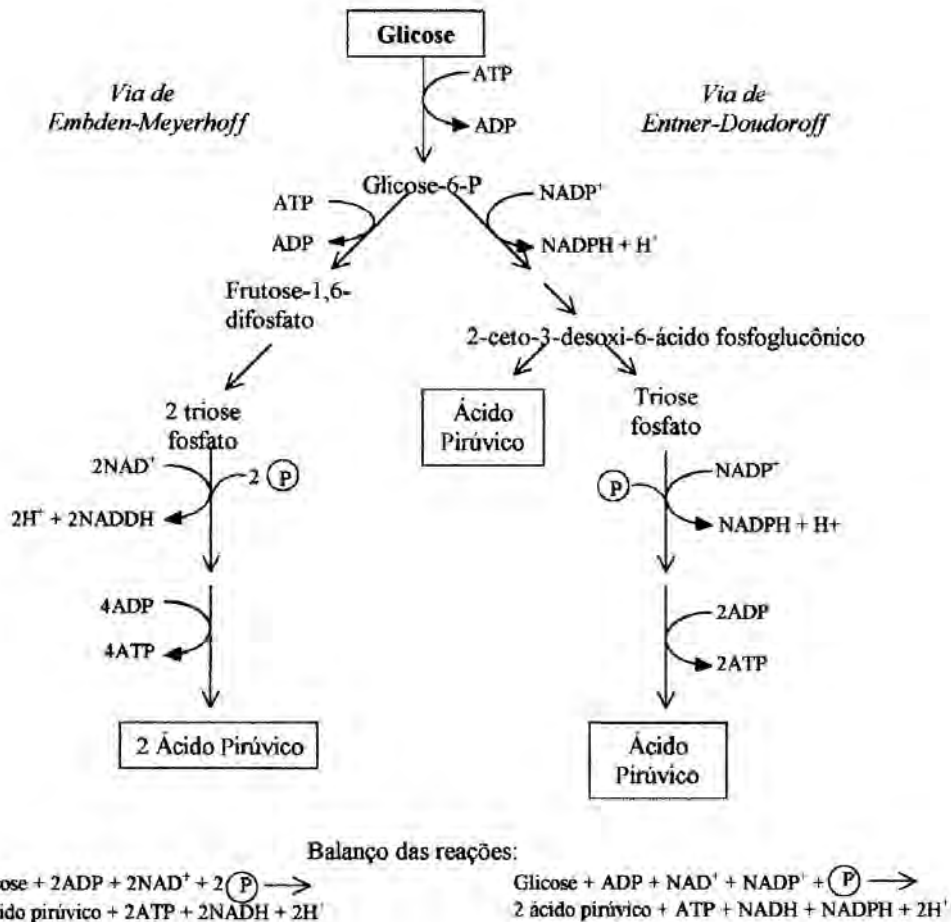


Figura 2.14. Vias Embden-Meyerhoff e Entner-Doudoroff de degradação da glicose. (Adaptado de Stanier et al., 1979.)

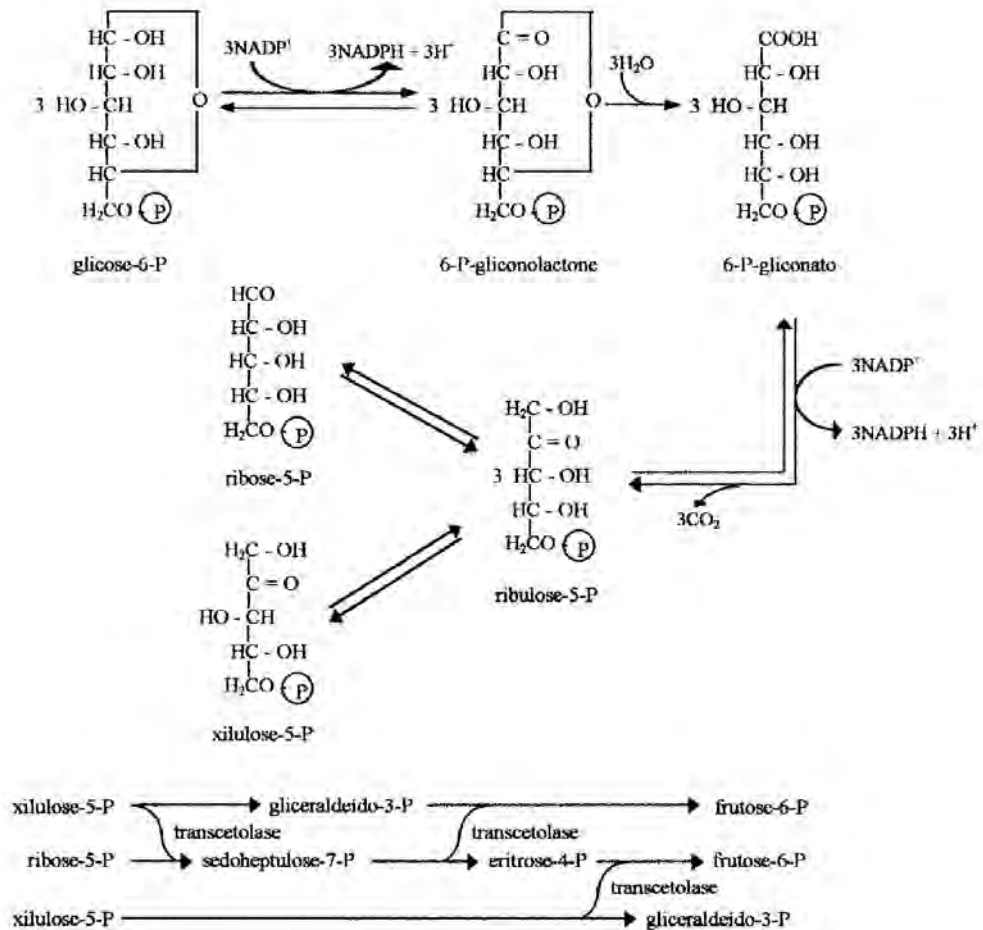


Figura 2.15. Via oxidativa da pentose-fosfato. (Adaptado de Gottschalk, 1985.)

principal dreno de metano e outros gases metilados responsáveis pelo efeito estufa. As metilotróficas podem ser anaeróbicas, anaeróbicas facultativas e aeróbicas, sendo as anaeróbicas incluídas nos metanogênicos que utilizam metanol. Na **tabela 2.11** estão listados alguns gêneros de bactérias aeróbicas metilotróficas que incluem metanotróficos.

Várias transformações inorgânicas quimio-litotróficas e a fixação biológica de N₂ atmosférico, entre outras, são restritas a algumas espécies de procariotos pertencentes a diferentes grupos metabólicos e/ou filogenéticos, tanto de Archaea como de Bacteria. Isso é denominado “redundância funcional” e garante a resiliência, ou seja, o poder de recuperação desses processos no solo, pois, se as condições desse forem desfavoráveis para um ou mais grupos, outros estarão adaptados àquelas condições e continuarão a realizar o processo.

Tabela 2.11. Características de gêneros que contêm espécies metilotróficas aeróbias. (Modificado de Lidstrom, 1991.)

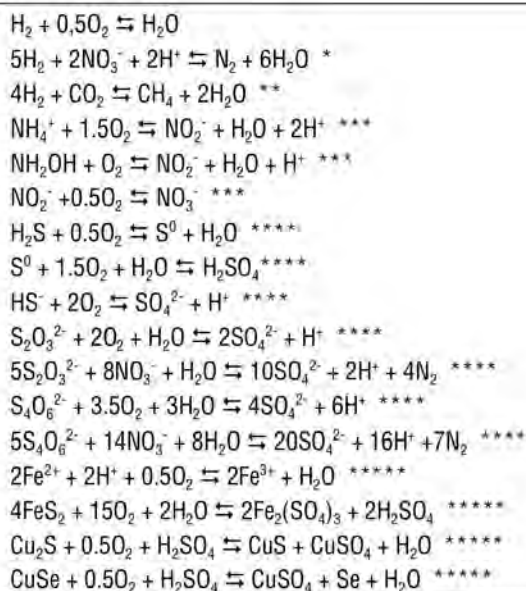
Gram-negativos	Substratos de crescimento
Metilotróficos obrigatórios	
Metanotróficos	
Tipo I - γ-Proteobacteria	
<i>Methylomonas*</i> , <i>Methylobacter*</i>	CH ₄ , CH ₃ OH.
<i>Methylococcus*</i>	
Tipo II - α-Proteobacteria	
<i>Methylosinus*</i> , <i>Methylocystis*</i>	CH ₄ , CH ₃ OH.
Metilotróficos facultativos restritos	
Utilizam metanol	
α -Proteobacteria	
<i>Hyphomicrobium</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ , dimetil sulfóxido, alguns compostos 2-C e 4-C e desnitrificação.
β - Proteobacteria	
<i>Methylobacillus</i>	CH ₃ OH e CH ₃ NH ₂ .
<i>Methylophilus</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ e fructose.
Metilotróficos facultativos	
α -Proteobacteria	
<i>Methylobacterium</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ e compostos multicarbono.
<i>Paracoccus</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ , compostos multicarbono e desnitrificação.
<i>Xanthobacter*</i>	CH ₃ OH e compostos multicarbono.
<i>Thiobacillus</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ , H ₂ S, S ₂ O ₃ e compostos multicarbono.
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	CH ₃ OH, compostos multicarbono e fotossíntese.
<i>Ancylobacter (Microcystus*)</i>	CH ₃ OH e compostos multicarbono.
γ -Proteobacteria	
<i>Acetobacter</i>	CH ₃ OH e compostos multicarbono.
Gram-positivos (baixa % C + G no DNA)	
<i>Bacillus*</i>	CH ₃ OH, CH ₃ NH ₂ e compostos multicarbono.
Gram-positivos (alta % C + G no DNA)	
<i>Mycobacterium</i>	CH ₄ , CH ₃ OH e compostos multicarbono.
<i>Arthrobacter</i>	CH ₃ NH ₂ e compostos multicarbono.
<i>Amycolatopsis (Nocardia)</i>	CH ₃ OH e compostos multicarbono.

* Gêneros com espécies fixadoras de nitrogênio atmosférico.

A quimiolitotrofia – habilidade de usar energia disponível na oxidação de compostos inorgânicos – compreende diversas reações inorgânicas (**Tabela 2.12**) relacionadas a processos edáficos importantes como a desnitrificação, nitrificação, metanogênese e capacidade de crescer utilizando compostos de enxofre reduzidos (H_2S , S^0 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $\text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6$) (**Tabela 2.13**). Quimiolitotróficos utilizam uma extraordinária diversidade de substratos e exibem modos diferentes de nutrição de carbono, morfologia e *habitats*. A redução dissimilatória de enxofre elementar (S^0) e a de sulfatos representam outras reações do ciclo do enxofre, as quais são mediada por bactérias, de diferentes grupos filogenéticos, que ganham energia para crescimento através da redução desses compostos usando, como doadores de elétrons, substratos orgânicos ou H_2 (**Tabelas 2.14 e 2.15**). O detalhamento de organismos pertencentes a esses três grupos envolvidos no ciclo do S, assim como de fototróficos ligados ao ciclo listados na tabela 2.10 ilustram a diversidade metabólica, filogenética e a utilização de fontes de carbono e energia existentes nos procariotos.

A fixação biológica de N_2 atmosférico (abordada no capítulo 9) também é restrita a procariotos. Muitas espécies de fixadores são capazes de realizar outros processos, como: fototrofia (Tabela 2.10), metilotrofia (Tabela 2.11), crescimento em compostos de enxofre reduzido (Tabela 2.13), redução de sulfato (Tabela 2.15), redução respiratória do enxofre elementar (Tabela 2.14) e até o processo inverso: desnitrificação (**Tabela 2.16**).

Tabela 2.12. Exemplos de reações químicas e respectivos processos mediados por organismos quimiolitotróficos.



*Desnitrificação, ** Metanogênese, *** Nitrificação, ****Oxidação de compostos de enxofre (capacidade de crescimento em compostos de S reduzidos) *****Oxidação de Fe^{2+} , Cu^{2+} e selênio.

Tabela 2.13. Características de gêneros de bactérias não fototróficas capazes de crescer em compostos de enxofre reduzidos (Adaptado de Robertson & Kuenen, 1991).

Gênero	Requisição de pH		Requisição de temperatura		Crescimento anaeróbio	
	Neutro-fílico	Acidofílico	Mesofílico	Termofílico	Desnitrificador	S ⁰ ou Fe ²⁺ como aceptores de elétrons
Archae						
<i>Sulfolobus</i>	-**	+	-	+	-	-
<i>Acidianus</i>	-	+	-	+	-	+
Eubacteria						
<i>Thiobacillus*</i>	+	+	+	+	+	Variável
<i>Thiomicrospira</i>	+	-	+	-	+	-
<i>Thiosphaera</i>	+	-	+	-	+	-
<i>Thermothrix</i>	+	-	-	+	+	-
<i>Thiovulum</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Beggiatoa*</i>	+	-	+	-	-	+
<i>Thiothrix</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Thioploca</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Thiodendron</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Thiobacterium</i>	+	-	+	-	-	+
<i>Macromonas</i>	+	-	+	-	-	+
<i>Achromatium</i>	+	-	+	-	-	+
<i>Thiospira</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Paracoccus</i>	+	-	+	-	+	-
<i>Hyphomicrobium</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Alcaligenes*</i>	+	-	+	-	+	-
<i>Pseudomonas*</i>	+	-	+	-	+	-
<i>Hydrogenobacter</i>	+	-	-	+	-	-

* Gêneros com espécies fixadoras de nitrogênio atmosférico.

** Ausência (-) ou presença (+) da característica.

Tabela 2.14. Características de gêneros de bactérias não fototróficas anaeróbias capazes de redução respiratória (dissimilatória) do enxofre elementar (Modificado de Widdel & Hansen, 1991.)

Gênero ou espécie	Morfologia	Temperatura ótima °C	Doadores de elétrons	Aceptores de elétrons
Eubacteria				
<i>Desulforomonas acetoxidans</i>	Bastão	30	Acetato, lactato e/ou piruvato, etanol, propionato, succinato e glutamato.	Enxofre, fumarato e nitrato.
<i>Desulfurella acetivorans</i>	Bastão	52-57	Acetato.	Enxofre.
<i>Desulfovibrio gigas</i> *	Vibrio	30-36	Lactato e/ou piruvato.	Enxofre, sulfato, tiosulfato, sulfito e fumarato.
<i>Desulfomicrobium</i> spp.	Bastão	28-37	Lactato e/ou piruvato.	Enxofre, sulfato, tiosulfato e sulfito.
<i>Wolinella succinogenes</i> e tipos espiriloides similares	Espirillum ou vibrio	30-37	H ₂ , lactato e/ou piruvato e formato.	Enxofre, nitrato, fumarato, O ₂ , tiosulfato e sulfito.
<i>Pseudomonas mendonica</i> subsp.	Bastão	35-36	H ₂ , succinato, malato e glutamato.	Enxofre, nitrato, tiosulfato e O ₂ .
<i>Sulfurospirillum deleyianum</i>	Espiral curvo	25-30	Lactato e/ou piruvato e formato.	Enxofre, nitrato, tiosulfato, sulfito e O ₂ .
Archaeobacteria				
<i>Acidianus infernus</i>	Cocus lobado	90	H ₂ com O ₂ : enxofre.	Enxofre e O ₂ .
<i>Sulfolobus ambivalens</i>	Cocus lobado	88	H ₂ com O ₂ : enxofre.	Enxofre e O ₂ .
<i>Pyrobaculum islandicum</i>	Bastões longos	100	H ₂ e extrato de levedura.	Enxofre, sulfito e tiosulfato.
<i>Pyrobaculum occultum</i>	Discos com fibras	105	H ₂ .	Enxofre.
<i>Thermoproteus tenax</i>	Bastão	80	H ₂ e extrato de levedura.	Enxofre, sulfito e tiosulfato.

*Espécie fixadora de nitrogênio atmosférico.

50 Capítulo 2 · Os Organismos do Solo

Tabela 2.15. Características de gêneros de bactérias não fototróficas anaeróbicas capazes de redução dissimilatória de sulfato (Adaptado de Widdel & Hansen, 1991).

Gênero	Morfologia	Temperatura ótima (°C)	Doadores de elétrons Exemplos
Eubacteria			
<i>Desulfovibrio</i> *	Víbrio	30-38	H ₂ , etanol, lactato, metanol, glicerol, glicina, alanina, colina e furfural.
<i>Desulfomicrobium</i>	Oval ou bastão	28-37	H ₂ , lactato, succinato, fumarato e malato.
<i>Desulfobulbus</i>	Oval	28-39	H ₂ , propionato, etanol e lactato.
<i>Desulfobacter</i> *	Oval ou vibrio	28-32	H ₂ , acetato e etanol.
<i>Desulfobacterium</i>	Oval	20-35	H ₂ , acetato, etanol, metanol, glutarato, anilina, glutamato e fenol.
<i>Desulfococcus</i>	Esfera	28-35	Propionato, ácidos graxos, etanol, lactato, acetona e ácidos orgânicos substituídos por fenil.
<i>Desulfosarcina</i>	Oval (formando agregados)	33	H ₂ , propionato, etanol, lactato e ácidos graxos.
<i>Desulfomonile</i>	Bastão	37	H ₂ , ácidos orgânicos substituídos por fenil e anisato.
<i>Desulfonema</i>	Filamentos multicelulares	30-32	Acetato, propionato, ácidos graxos e ácidos orgânicos substituídos por fenil.
<i>Desulfobotulus</i>	Víbrio	34	Ácidos graxos e lactato.
<i>Desulfoarculus</i>	Víbrio	35-39	Propionato, ácidos graxos e acetato.
<i>Desulfotomaculum</i> *	Bastões retos ou curvos; esporula	30-38 50-65	H ₂ , malato, etanol, metanol, alanina, acetato, propionato, ácidos graxos e lactato.
<i>Thermodesulfobacterium</i>	Bastão	65-70	H ₂ e lactato.
Archaeobacteria			
<i>Archaeoglobus</i>	Esfera	82-83	H ₂ , lactato, frutose, glucose, amido e peptídeos.

*Gêneros com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico.

Tabela 2.16. Exemplos de espécies desnitrificadoras em diferentes divisões de Procarióticos.

Filo	Espécie
Archaeobacteria	<i>Halobacterium mediterraneum</i> .
Proteobacteria	
Classe alfa	<i>Azospirillum brasilense</i> *, <i>Herbaspirillum seropedicae</i> *, <i>Bradyrhizobium japonicum</i> * e <i>Nitrobacter sp.</i>
Classe beta	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Classe gama	<i>P. aeruginosa</i> e <i>P. fluorescens</i>
Gram-positivos	<i>Bacillus cereus</i> e <i>B. polymixa</i> *

*Espécies fixadoras de nitrogênio atmosférico.

Procariotos que metabolizam H₂ (produzindo ou consumindo) pertencem a diferentes grupos metabólicos (como metanogênicos, fototróficos anoxigênicos e bactérias Knallgas) e filogenéticos tanto de Archaea como Bacteria. Eles tanto podem utilizar H₂ como fonte de energia e redutora, ou produzi-lo, como um meio de dispersar o excesso de redutores no metabolismo fermentativo. A lista deste grupo é enorme e muitas espécies já foram mencionadas em outros grupos fisiológicos abordados neste capítulo. A habilidade de usar H₂ como doador de elétrons é realizada por vários grupos de bactérias, a maioria autotróficos facultativos, que fixam CO₂ e usam O₂ como acceptor de elétrons (e.g. *Paracoccus denitrificans*, *Aquaspirillum autotrophicum*, *Xanthobacter flavus*, *Nocardia opaca*), e ainda membros das Enterobacteriaceae, vários fixadores de N₂, *Acetobacter* e outros que usam O₂ como acceptor, mas não fixam CO₂. Outro grupo interessante de bactérias é o das luminescentes: emitem luz através da luciferase e habitam sistemas aquáticos e terrestres. Em ambientes aquáticos existem vários *Vibrio* spp. luminescentes. No solo, são representadas por *Xenorhabdus luminescens*.

2.3.2 Archaea

Os avanços no estudo da filogenia de procariotos proporcionaram uma das mais surpreendentes descobertas sobre esses organismos: Archaea é tão distante em termos evolutivos de Bacteria quanto o é de Eucarya, ou seja, Archaea não compartilha com Bacteria muitas das características consideradas fundamentais aos procariotos. A composição da parede e da membrana celular das Archaea é única (Tabela 2.7) e, provavelmente, esteja relacionada à sua capacidade de habitar ambientes em condições extremas de temperatura, salinidade e pressão (**Tabela 2.17**). Os Archaea incluem tanto espécies aeróbias como anaeróbias e com tolerância a pH variável, compreendendo quatro Filos: *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota*, *Korarchaeota* e *Nanoarchaeota* (**Tabela 2.18**). Os *Crenarchaeota* incluem termofílicos extremos ligados ao ciclo do enxofre. Os *Euryarchaeota* incluem uma diversificada coleção de linhagens: metanogênicos, halofílicos e termofílicos e o gênero *Archaeoglobus*, hipertermófilo

Tabela 2.17. Condições ótimas de crescimento para algumas espécies de Archaea.

Reino/Espécie	Habitat	Temp. °C	pH	NaCl (M)	Aeróbio	Anaeróbio
Crenarchaeota						
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Campos continentais de solfatará*, incluindo solos quentes ácidos.	87	4,5	Nd	+	-
<i>Acidianus infernus</i>	Idem	85-90	2,0	Nd	+	+
<i>Pyrodicticum occultum</i>	Biotopos com atividade vulcânica, incluindo solos.	105	6,5	0,03	-	+
<i>Thermoproteus tenax</i>	Idem	88	5,5	Tr ***	-	+
Euryarchaeota						
<i>Thermococcus litoralis</i>	Ambientes marinhos e terrestres com solfatará.	85-88	6,0	0,3-0,6	-	+
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Idem	100	6,0-8,0	0,26-1,1	-	+
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	Áreas hidrotérmicas submarinas anaeróbicas.	83	6,5	0,26	-	+
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	Pilhas aquecidas de carvão.	60	1,5	Tr	+	+
<i>Methanobacterium alcaliphilum</i>	Solos inundados.	37	8,1-9,1	Nd	-	+
<i>Methanococcus jannaschii</i>	Idem	85	6,0-7,0	0,4-0,7	-	+
<i>Halobacterium (Halorubrum) saccharovororum</i>	Solos salinos.	50	-	3,5-4,5	+	-

* solfatará- grande quantidade de enxofre depositada pelos vapores que saem de um vulcão em repouso.

** Ausência (-) ou presença (+) da característica.

*** Traços.

Nd: Não determinado.

Tabela 2.18. Filos e Ordens de Archaea com gêneros representativos (Fontes: "The Prokaryotes" 1999-2005 on line e NCBI on-line).

Filos/Ordens	Gêneros representativos
Crenarchaeota ^(*)	
Ordem Sulfolobales	<i>Sulfolobus</i> e <i>Acidianus</i>
Ordem Thermoproteales	<i>Thermoproteus</i> e <i>Vulcanisaeta</i>
Ordem Desulfurococcales	<i>Desulfurococcus</i> , <i>Acidilobus</i> e <i>Pyrodictium</i>
Ordem Cenarchaeales	<i>Cenarchaeum</i>
Ordem Caldisphaerales	<i>Caldisphaera</i>
Euryarchaeota	
Ordem Archaeoglobales	<i>Archaeoglobus</i> , <i>Ferroglobus</i> e <i>Geoglobus</i>
Ordem Methanobacteriales ^(**)	<i>Methanobacterium</i> e <i>Methanobrevibacter</i>
Ordem Methanococcales ^(**)	<i>Methanococcus</i> e <i>Methanothermococcus</i>
Ordem Methanomicrobiales ^(***)	<i>Methanospirillum</i> e <i>Methanomicrobium</i>
Ordem Methanosarcinales ^(***)	<i>Methanosarcina</i> e <i>Methanohalobium</i>
Ordem Thermoplasmatales ^(*)	<i>Thermoplasma</i> e <i>Ferroplasma</i>
Ordem Thermococcales ^(*)	<i>Thermococcus</i> e <i>Pyrococcus</i>
Ordem Halobacteriales ^(****)	<i>Halobacterium</i> e <i>Natronococcus</i>
Korarchaeota	Organismos não cultiváveis
Nanoarchaeota	<i>Nanoarchaeum</i>

(*) Termofílicos extremos, (**) Metanogênicos, (***) Halofílicos

reduzido de sulfato, considerado de transição entre os Filos *Crenarchaeota* e *Euryarchaeota*. O Filo *Korarchaeota* não possui até o momento representantes entre os organismos cultiváveis. O *Nanoarchaeota* é representado por bactérias muito pequenas (diâmetro de 400 nanômetros) hipertermofílicas e que estabelecem simbiose crescendo na superfície de uma nova espécie de *Ignicoccus*, bactéria hipertermofílica, quimiolitotrófica do *Crenarchaeota*. Entre as Archaea, a importância ambiental dos metanogênicos se destaca porque estimativas indicam ser de origem microbiológica recente, 74% do metano atmosférico, o principal gás do efeito estufa. Os metanogênicos são um grupo grande e diverso de Archaea, que tem em comum, além de ser Archaea, a capacidade de produzir grande quantidade de gás metano como principal produto de seu metabolismo e ser estritamente anaeróbios. Embora outros grupos anaeróbios denominados "miniprodutores de metano" também produzam esse gás, tal produção é em quantidade muito pequena e resultante de reações secundárias do metabolismo. Outra característica que distingue os metanogênicos dos miniprodutores de

metano é que aqueles são produtores obrigatórios de metano, isto é, só crescem em condições onde o metano é formado.

Atualmente, a concentração de metano na atmosfera é de 1,7 ppm e está aumentando 1% ao ano (Cicerone & Oremland, 1988) pela liberação na atmosfera de 400–640 X 10¹² g anuais. As principais fontes de metano são terrestres e incluem: fermentação entérica em animais, ecossistemas inundados (como pântanos e campos de arroz) e cupins.

Archaeobacteria possuem aplicações diversas. Estirpes de Sulfolobales são capazes de extrair eficientemente íons metálicos de minas sulfídicas através de oxidação de ácido sulfúrico (biolixiviação). Outras estirpes de Sulfolobales estão sendo investigadas para remoção de enxofre orgânico e inorgânico de carvão e óleo. Bactérias metanogênicas têm numerosas aplicações, especialmente na degradação de resíduos ou dejetos ricos em matéria orgânica para CO₂ e metano, principal componente de gás natural de ampla utilização, como, por exemplo, no tratamento de lodo de esgoto. Como os metanogênicos empregam poucos substratos específicos, é necessário um consórcio com bactérias heterotróficas capazes de converter materiais orgânicos complexos em substratos utilizáveis por eles. Consórcios com metanogênicos também são capazes de degradar xenobióticos, como compostos alifáticos e aromáticos halogenados.

Os halofílicos extremos podem ter tanto efeitos prejudiciais como benéficos em salinas artificiais. Como efeito benéfico, os carotenóides presentes nas células capturam a radiação incidente, aumentando a temperatura e, conseqüentemente, a velocidade de evaporação, contribuindo, assim, para o aumento da produção de sal. No entanto, algumas estirpes podem afetar adversamente a estrutura dos cristais salinos, depreciando-lhe a qualidade. Membros de Halobacteriaceae estão presentes em quantidade significativa em produtos comerciais fermentados à base de peixe.

2.3.3. Bactéria

O domínio Bactéria, também denominado por alguns autores Eubactéria (bactérias verdadeiras), possui atualmente 52 Filos (Figura 2.3A), os quais compreendem os 12 Filos descritos por Woese (1987) (**Tabela 2.19**), além de 40 adicionados posteriormente, sendo 26 de organismos não cultiváveis e 14 de organismos cultiváveis.

Com relação aos organismos não cultiváveis, as únicas informações que se tem destes organismos são suas características genéticas a partir de DNA extraído do ambiente, que podem ser obtidas em bancos de dados de Biologia Molecular, como o NCBI. Como o organismo intacto não foi obtido em cultura pura, nada se sabe sobre suas características fisiológicas, bioquímicas e morfológicas.

Os novos Filos cultiváveis incluem vários termófilos como: *Aquificae* – quimiolitotróficos que realizam reações do tipo “Knallgas”, oxidação do hidrogênio e redução do oxigênio; *Thermodesulfobacteria* – quimiolitotrófico já mencionado por Woese (1987) como, provavelmente, novo Filo, além de *Dictyoglomi*, *Coprothermobacteria*, *Caldithrix* e *Desulfurobacteria*. Outro novo Filo é denominado *Nitrospira*, por conter, entre outros, esse gênero de quimiolitotróficos oxidantes de nitrito que, no Prokaryotes, também são classificados como Proteobactéria – classe alfa. Esse Filo e outro – *Acidobactéria* – são bastante ubíquos e abundantes na natureza. *Verrucomicrobia* é um Filo com poucos gêneros, sendo um deles ectossimbiontes

Tabela 2.19. Filos de Bacteria com exemplos de gêneros, espécies e/ou grupos representativos [Woese (1987) e The Prokaryotes (1999-2005)].

Firmicutes

- Gram-positivas com alta % C+G no DNA (**Actinobacteria**-actinomicetos): *Actinomyces*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Frankia*, *Micrococcus*, *Bifidobacterium* e *Corynebacterium*.
- Gram-positivas com baixa % G+C no DNA: *Clostridium*, *Bacillus*, *Stretococcus*, *Staphylococcus* e *Mycoplasma*.
- Bactérias com paredes celulares atípicas: *Heliobacterium*, *Megasphaera* e *Sporomusa*

Cyanobacteria

- *Anabaena*, *Aphanocapsa*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Synechoccus*, *Gleobacter* e *Prochloron*.

Proteobacteria (Bactérias púrpuras):

- **Classe α :** *Blastobacter*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Beijerinckia*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Nitrobacter*, *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhodomicrobium*, *Rhodospirillum*, *Methylobacterium* e *Methylocapsa*.
- **Classe β :** *Derrxia*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Acidiphylum*, *Alcaligenes*, *Spirillum*, *Nitrosomonas*, *Nitrosovibrio*, *Rhodoferax*; metilotróficas e *Methylobacillus*.
- **Classe γ :** *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Erwinia*, *Shigella*, *Xenorhabdus*, *Proteus*, *Xanthomonas*, *Methylobacter* e *Methylococcus*.
- **Classe δ :** *Bdellovibrio*; *Myxobacteria* (vários gêneros) e *Desulfovibrio*.
- **Classe ϵ :** *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Sulfurospirillum* e *Arcobacter*.

Espiroquetas: *Spirochaeta*, *Treponema*, *Borrelia* e *Leptospira*.

Chlorobiaceae (Bactéria verdes metabolizantes do S): *Chlorobium* e *Chloroherpeton*.

Bacteróides e grupo de Cytophaga: *Cytophaga* e *Flavobacterium*.

Chlamydia: *Chlamydia psittaci* e *C. trachomatis*.

Planctomyces e bactérias relacionadas: *Planctomyces* e *Pirellula*.

Deinococcaceae e Thermus (radioresistentes e termófilos): *Deinococcus radiodurans* e *Thermus aquaticus*.

Chloroflexaceae e bacterias relacionadas: *Chloroflexus*, *Herpetosiphon* e *Thermomicrobium*.

Thermotogales: *Fervidobacterium*, *Thermosiphon* e *Thermotoga*.

de protozoários que possuem organelas chamadas extrusomas, na forma de arpão, que parecem agir como protetoras contra predadores do hospedeiro. Mais informações não só sobre características genéticas, como sobre bibliografia relacionada a esses novos Filos, podem ser obtidas no NCBI e em outros bancos de dados.

O primeiro dos doze Filos descritos por Woese (1987) (Tabela 2.19) é o dos Firmicutes, que incluem, principalmente, bactérias gram-positivas, mas, também, bactérias com paredes celulares atípicas. Os Gram positivos são separados entre os que possuem baixo e alto conteúdo de C + G no DNA respectivamente menor e maior que 55 mol %. Embora tratados por Woese como um único Filo, já são considerados Filos desiguais por trabalhos recentes (Figura 2.3 A). Nesses Filos/grupos ocorrem gêneros abundantes no solo entre aqueles recuperados pelas técnicas de cultivo, como *Bacillus*, *Clostridium* e *Actinobacteria* (actinomicetos). *Bacillus* e *Clostridium* são gêneros de anaeróbios, respectivamente, facultativos e obrigatórios, com espécies importantes, como patógenos humanos e animais e que produzem endósporos. Comparados às células vegetativas, os esporos são mais resistentes ao calor, por um fator maior ou igual a 10^5 , à radiação ultravioleta 100 vezes ou mais, e mais resistentes a dessecação, antibióticos, desinfetantes etc. A maior parte das espécies de *Bacillus*, inclusive *B. cereus*, que causa contaminação de alimentos, têm o solo como *habitat*. Devido a sua patogenicidade sobre insetos, espécies de *Bacillus* como *B. popilliae*, *B. lentimorbus*, *B. larvae* e *B. thuringiensis*, têm sido usadas no controle biológico de pragas. Nesse Filo, encontram-se também as *Mycoplasma* spp., bactérias sem paredes celulares, classificadas na classe Mollicutes (Mollis = macia, cutes = pele), que são filogeneticamente relacionadas a esse Filo.

As actinobactérias, apesar de procaríotas e, portanto, consideradas bactérias, possuem algumas características semelhantes a fungos, como a produção de hifas, septadas ou não, e foram originalmente classificadas como fungos, resultando no nome “actinomiceto”. O gênero *Actinomyces*, do qual se originou o nome do grupo, constitui uma unidade taxonômica ainda sem família definida. Compreende espécies de patógenos animais e humanos importantes, mas, também espécies exclusivamente isoladas do solo, como *A. humiferus*, que representa um grupo bastante numeroso das bactérias cultiváveis. Características de gêneros representativos de diferentes grupos de actinobactérias são descritas na **tabela 2.20**. As actinobactérias são altamente diversas morfolologicamente (**Figura 2.16**), variando de micrococos, bastões pleomórficos, filamentos ramificados e ciclos de vida que combinam ou não tais formas. As hifas podem ser curtas e rudimentares a extensivamente ramificadas e são estreitas, com diâmetro de 0,5 a 2 μm . Podem, ainda, penetrar no substrato ou elevar-se acima deles (aéreas). Sua reprodução é por fragmentação de hifas ou esporos. Os esporos podem ser de vários tipos, como os artrósporos (e.g., *Streptomyces*) e zoósporos (e.g., *Spirillospora* e *Actinoplanes*), sendo produzidos nas hifas (de um a vários em cadeia), em esporângios ou em vesículas. O nicho ecológico da maioria das actinobactérias é a zona aeróbica do solo. Uma característica marcante das actinobactérias é a produção de enzimas extracelulares que degradam macromoléculas complexas comumente encontradas nos solos (e.g., caseína, amido, quitina, húmus, celulose e lignocelulose), além da síntese e excreção de milhares de metabólitos, como antibióticos e geosmina, que dá odor característico à terra molhada. Selman Waksman, um dos mais importantes microbiologistas do solo, ganhou o prêmio Nobel de Medicina em 1952 pela descoberta da estreptomicina. Além da estreptomicina,

Tabela 2.20. Exemplos de grupos filogenéticos (famílias e gêneros) de actinobactérias importantes que ocorrem no solo e descrição de gênero característico em cada uma delas ("The Prokaryotes", 1999-2005).

Grupo	Descrição de gênero característico
Nocardiaceae	<i>Nocardia</i> : Filamentos não estáveis, fragmentando-se facilmente em elementos cocóides ou em bastões, 0,5-1,2 μm de diâmetro, cadeias de conideos em hifas aéreas ou hifas aéreas e no substrato. Não produz esporângios. Aeróbios e mesofílicos. Decompositores de matéria orgânica e patógenos.
Frankiaceae	<i>Frankia</i> : Micélio filamentosos septado que pode se diferenciar em vesículas e esporângios. Hifa de 0,5-2,0 μm de diâmetro. Sem micélio aéreo. Esporângio multilocular formado por septação de hifa em três planos. Esporangiosporos não móveis. Diazotróficos mutualistas simbióticos formando nódulos radiculares (e excepcionalmente caulinares) em plantas de 8 famílias botânicas.
Micromonosporaceae	<i>Micromonospora</i> : Micélio septado ramificado. Diâmetro de 0,5 μm . Micélio aéreo ausente. Esporos formados unicamente em micélio no substrato. Crescimento entre 20 e 40°C e não acima de 50°C. Produz pigmentos solúveis de várias cores.
Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i> : Filamentos de 0,5-2,0 μm de diâmetro, ramificados extensivamente. Cadeias de 3 a vários esporos, geralmente aéreos. Crescimento ótimo em 25-35°C. Produção de pigmentos e/ou antibióticos. Abundantes no solo.
Streptosporangiaceae	<i>Streptosporangium</i> : Micélio aéreo ramificado estável (não fragmentável) em substrato produzindo hifas aéreas que se podem diferenciar em cadeias curtas de artrosporos ou esporângios. Esporos móveis ou não. Hidrolisados de hifa contêm madurose (galactose metilada). Produzem vários antibióticos e enzimas de valor comercial.
Thermomonosporaceae	<i>Thermomonospora</i> : Filamentos não fragmentáveis formando colônias tenáceas. Esporos formados em grupos nas pontas de esporosporos ramificados. Crescimento ótimo em 37-50°C. Comum em esterco, compostos e feno apodrecidos. Excretam várias enzimas extracelulares termoestáveis.
Cellulomonadaceae	<i>Cellulomonas</i> : Bastonetes irregulares de 0,4-0,8 μm de diâmetro. Maioria das espécies com flagelos polares multitríqueos. Colônias em meio com ágar parecem nocardiformes, com margens como micélios. Filamentos podem ramificar se e fragmentar se, posteriormente, em bastonetes. Degradam celulose.
<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i> : Espécies com mudanças marcantes de forma durante o ciclo: de células cocóides a bastonetes, estando relacionadas com status nutricional do meio. Aeróbios obrigatórios. Temperatura ótima em 25-30°C. Extremamente numerosos no solo. Versáteis nutricionalmente: degradam herbicidas, pesticidas e outras moléculas sintéticas. Algumas moléculas produzem fitohormônios.

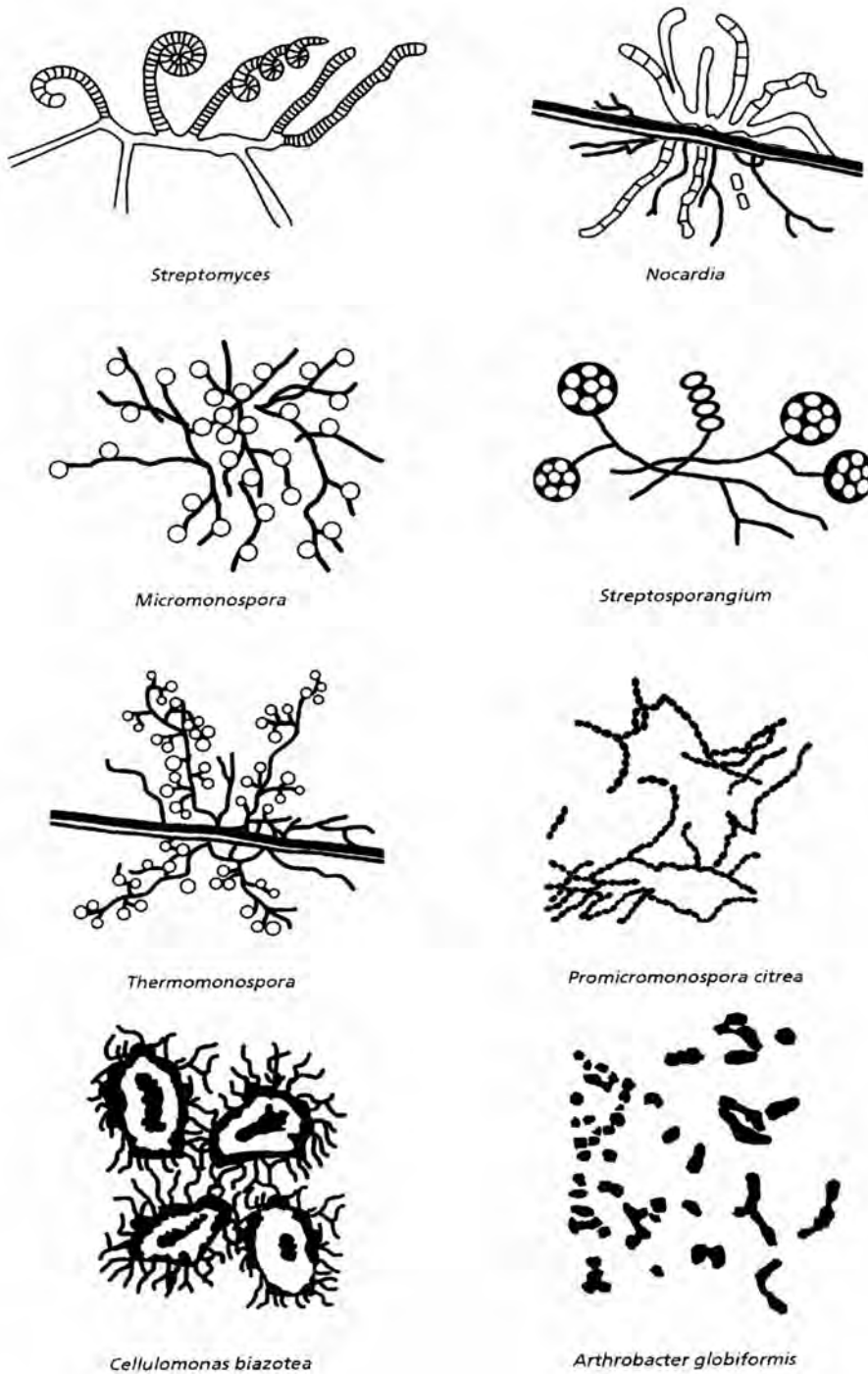



Figura 2.16. Diversidade morfológica de actinobactérias. (Desenhos fora de escala.)  = superfície do substrato com agar, indicando penetração do micélio no substrato. Outras espécies produzem micélio aéreo.

antibiótico antibacteriano, espécies do gênero *Streptomyces* são capazes de produzir ampla variedade de antibióticos com inúmeras propriedades: antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, antiparasítica, inseticida e controladora de ervas daninhas. O processo de fixação biológica de N_2 é mediado nesse grupo pelo gênero *Frankia*, que forma simbiose radicular com plantas de oito famílias botânicas (ver capítulo 9). Outras espécies dos gêneros *Corynebacterium* e *Streptomyces* são patógenos vegetais. Patógenos animais são encontrados entre os gêneros *Corynebacterium*, *Actinomyces*, *Nocardia*, *Thermoactinomyces* e *Mycobacterium*. Nesse último, a espécie *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* destaca-se por ser o principal oportunista causador de morte em pessoas que contraíram o vírus da AIDS. As actinobactérias podem ser consideradas grupo de transição entre fungos e bactérias. Como as bactérias: em alguns gêneros ocorrem flagelos, têm morfologia e tamanho de hifas semelhantes (são mais finas que as de fungo, que têm mais de 2 μm de diâmetro); alguns gêneros não produzem micélios aéreos e são procarionóticos. Como os fungos: nos actinomicetos superiores, o micélio tem ramificação extensa, várias espécies têm micélio aéreo e conídio e o crescimento em cultura líquida não é turvo como as bactérias, porém em aglomerados.

As cianobactérias são um grupo definido pela presença de clorofila *a*, filogeneticamente coerente que contém somente organismos fotossintéticos e que engloba também *Prochloron*, gênero que, além da clorofila *a*, possui também a *b*. São consideradas um dos mais diversos grupos dos procariotos e variam de formas unicelulares que se reproduzem por fissão binária a formas complexas filamentosas heterocísticas ou ramificadas, com uma variedade de tipos de células altamente diferenciados, podendo algumas ser consideradas como verdadeiramente multicelulares, pois apresentam diferenciação celular e especialização funcional (**Figura 2.17**). Características das cinco Ordens de cianobactérias são

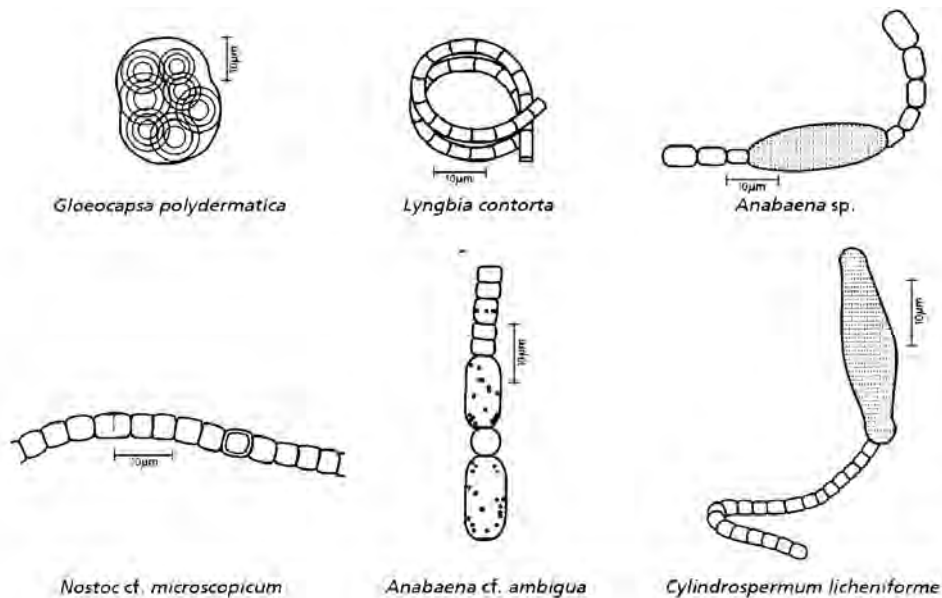


Figura 2.17. Exemplos de formas de cianobactérias.

apresentadas na **tabela 2.21**. Essas características estão relacionadas, principalmente, à forma e ao tipo de reprodução, como mencionado, extremamente variáveis nesse grupo. As cianobactérias são predominantemente fototróficas, realizando a fotossíntese como as plantas e as algas verdes (eucariotos), isto é, liberando oxigênio (fotossíntese oxigênica) e com clorofila *a* como o pigmento fotossintético primário e ficobiliproteínas como pigmentos auxiliares na coleta de luz. No entanto, algumas cianobactérias são capazes de passar a fazer fotossíntese anoxigênica como as bactérias fotossintéticas, principalmente em ambientes onde o ácido sulfídrico (H₂S) está presente. Além disso, também são capazes de heterotrofia (tanto foto como química) e mixotrofia (alguns compostos orgânicos são assimilados como complemento à autotrofia; no entanto, não são usados como única fonte de carbono). Outra importante característica de muitas espécies é a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, processo redutor extremamente sensível ao oxigênio. A conciliação da fotossíntese oxigênica com tal processo, em algumas espécies filamentosas (e.g., *Anabaena*), dá-se através da diferenciação morfológica, fisiológica e bioquímica de células. Tais espécies possuem dois tipos de célula: as vegetativas, onde ocorre a fotossíntese e os heterocistos, células de paredes espessas, onde se dá a fixação biológica de N₂ (ver capítulo 9). A habilidade de fixar N₂ torna espécies de cianobactérias aptas a colonizar ambientes com baixos níveis de nitrogênio na forma combinada. A alta diversidade desse grupo torna-o apto também a colonizar um amplo espectro de ambientes terrestres (desertos frios e quentes, florestas tropicais, Antártida, pântanos, etc.), marinhos e de água doce.

Devido à grande similaridade do seu aparato fotossintético com as plantas superiores, servem como excelente modelo para estudo da fotossíntese oxigênica. A resistência a herbicidas em plantas, por exemplo, é uma característica cloroplástica que, no futuro, poderá ser manipulada por Engenharia Genética. Estudos nesse sentido, portanto, poderão empregar cianobactérias, que são mais facilmente manipuláveis por ter tamanho e tempo de reprodução menores. Outras espécies têm potencialidade para uso na dieta humana e animal, como *Spirulina*, filamentosa não heterocística, que tem sido usada na dieta humana na África, como fonte de proteína e vitaminas. Outros usos potenciais de cianobactérias incluem: purificação de água (pela incorporação de metais pesados), síntese de produtos naturais como carotenóides, polissacarídeos, antioxidantes, antibióticos, precursores farmacêuticos e controle de insetos. No entanto, algumas espécies (e.g., *Anabaena* spp., *Oscillatoria* spp. e *Microcystis* spp.) também podem causar problemas graves em reservatórios de água pela liberação de toxinas (e.g. microcistina) que podem provocar até a morte. Esse problema ocorre principalmente quando se utilizam biocidas causando a lise das células e a liberação das toxinas que se dissolvem na água.

No domínio Bactéria, o Filo Proteobacteria é o maior e mais diverso. A segunda edição do Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Garrity, 2005) contém 1.875 espécies desse Filo, englobando 72 famílias e 425 gêneros, o que representa 30% do número total de espécies descritas de Bactéria (6.250). Proteobacteria origina-se do nome do deus grego "Proteus", que podia assumir diferentes formas, refletindo, assim, a enorme diversidade de morfologias e fisiologias observadas nesse Filo bacteriano. As Proteobacterias estão divididas em cinco classes que compreendem a maioria das bactérias gram-negativas de interesse médico, veterinário, industrial e agrícola. Na classe alfa, encontram-se dois grupos extremamente importantes nos ciclos do carbono e do nitrogênio: as bactérias fototróficas púrpuras não sulfurosas

Tabela 2.21. Características das cinco ordens de Cianobactéria (Adaptado de Waterbury, 1991).

Ordem	Características	Gêneros
Chroococcales	<ul style="list-style-type: none"> -unicelulares -reprodução por fissão binária ou brotamento com divisão ocorrendo em 1, 2 ou 3 planos -células 0,5-3 µm, cocos ou bastões, simples ou agregados -forma e tamanho dos agregados dependem dos planos de divisão e da presença de goma extracelular ou bainhas estruturadas que mantêm as células unidas 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Chamaesifon</i> <i>Gloeobacter</i> <i>Synechococcus</i> <i>Cyanothece</i> <i>Gloeocapsa</i> <i>Synechocystis</i>
Pleurocapsales	<ul style="list-style-type: none"> -reprodução por fissão múltipla -unicelulares (de fissão múltipla) a agregados de células (de fissão binária) -agregados de poucas células a grupos de células pseudofilamentosas -nos agregados, algumas células sofrem fissão múltipla e liberam estruturas unicelulares chamadas baecistos 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Dermocarpa</i> <i>Xenococcus</i> <i>Dermocarpella</i> <i>Pleurocapsa</i> <i>Myxosarcina</i> <i>Chroococcidiopsis</i>
Oscillatoriales	<ul style="list-style-type: none"> -filamentosas não diferenciadas -fissão binária em um plano a ângulos retos no eixo longo do tricoma -reprodução por fragmentação do tricoma ou por produção de hormogônios liberados das pontas dos tricomas. -diâmetro da célula: 0,5-100 µm -forma de bastonetes a discos 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Spirulina</i> <i>Arthrospira</i> <i>Lyngbya</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Microcoleus</i> <i>Pseudanabaena</i> <i>Phormidium</i> <i>Plectonema</i>
Nostocales	<ul style="list-style-type: none"> -filamentosas capazes de diferenciação celular -divisão por fissão binária em um plano e ângulos retos ao eixo maior do tricoma -diferenciação resultando em vários tipos de células especializadas: acinetos, heterocistos, hormogônios (tricomas reprodutivos) e tricomas pontudos (resposta ao gradiente de nitrogênio causado pelos heterocistos localizados terminalmente) 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Cylindrospermum</i> <i>Anabaena</i> <i>Nodularia</i> <i>Calothrix</i> <i>Scytonema</i> <i>Nostoc</i>
Stigonematales	<ul style="list-style-type: none"> -como Nostocales são filamentosas com o mesmo grau de diferenciação celular, em adição, se dividem por fissão binária em planos múltiplos. Como resultado os talos exibem ramificação verdadeira e possuem tricomas uni e multisseriados 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Chlorogloopsis</i> <i>Fischerella</i> <i>Hapalosiphon</i> <i>Stigonema</i>

(e.g., *Rhodospirillum*, *Rhodomicrobium*) – que são representadas por outros gêneros na classe beta (e.g., *Rhodofera*) – e bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico que formam simbiose com plantas da família Leguminosae, além de outros fixadores de nitrogênio de vida livre. Devido ao primeiro grupo, i.e., as bactérias púrpuras, o nome originalmente dado a todo o grupo de Proteobacteria foi “bactérias púrpuras” (“Purple bacteria”). Neste Filo, o fenótipo fotossintético está bem distribuído em quase todas as classes (exceto nas delta e epsilon), e, certamente, o ancestral do Filo era uma bactéria púrpura fotossintética, porém a capacidade fotossintética foi perdida muitas vezes, resultando em várias linhagens não fotossintéticas. Assim, neste Filo, agrupam-se fotossintéticos com não fotossintéticos, aeróbios com anaeróbios, além de heterotróficos (quimioorganotróficos) e quimiolitotróficos. Geralmente, bactérias “púrpuras” realizam fotossíntese anoxigênica, porém, recentemente, descobriram-se espécies aeróbias obrigatórias com aparato fotossintético de bactérias púrpuras, inclusive em duas novas espécies isoladas de solo (*Craurococcus roseus* e *Paracraurococcus ruber*). Bactérias púrpuras podem ser divididas ainda em não sulfurosas, como as já citadas, e sulfurosas, sendo que as últimas ocorrem na classe Gama, que é a maior classe de Proteobacteria, e também são anoxigênicas (e.g., *Chromatium*, *Thiocystis* e *Thiocapsa*). Bactérias fixadoras de nitrogênio, também chamadas de diazotróficos, ocorrem em outros Filos, tanto de Bacteria como de Archaea (ver capítulo 9) e, neste Filo, em outras classes além da subclasse alfa, inclusive outros gêneros que nodulam leguminosas. Entre outros grupos importantes de Proteobacteria destacam-se nas classes beta e alfa, os nitrificadores, ou seja, quimiolitotróficos oxidantes de amônia e nitrito (e.g., *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*), e organismos ligados ao ciclo do enxofre como: *Acidiphilium acidophilum* e *Paracoccus* spp. (classe alfa, espécies estas que estavam previamente classificadas como de *Thiobacillus*), *Thiobacillus* (classe beta), *Chromatium* (classe gama), *Desulfovibrio* e *Desulfobacter* (classe delta), *Arcobacter* e *Sulfurospirillum* (classe epsilon). Na classe delta, estão agrupados: predadores de outros Prokaryota como *Bdellovibrio*; bactérias redutoras de enxofre e sulfato dissimilatórias (e.g., *Desulfobacter*); as myxobacterias (e.g., *Myxococcus*), que têm mobilidade deslizante fazendo com que se espalhem pelo meio de cultura e, ainda, bactérias sintróficas que fermentam propionato (e.g., *Syntrophobacter*) ou benzoato (e.g., *Syntrophus*) a acetato, CO₂ e hidrogênio em culturas conjuntas com metanogênicos consumidores de hidrogênio. A classe epsilon é a menor classe das Proteobacteria e compreende importantes enteropatógenos humanos e animais, como *Campylobacter* e *Helicobacter*, além de outros grupos citados ligados ao ciclo do enxofre.

Os demais Filos de Bacteria compreendem: patógenos humanos e animais, como as espiroquetas e clamídias, estas últimas intracelulares obrigatórias; *Cytophaga*, celulolítica importante no solo capaz de utilizar grande variedade de polímeros complexos naturais; espécies com células vegetativas resistentes à radiação, como *Deinococcus* spp. (e.g., *D. radiophilus* e *D. radiodurans* – syn. *Micrococcus radiophilus* e *M. radiodurans*); termófilos, como *Thermus aquaticus* (de onde foi isolada a enzima TaqPolimerase, resistente a altas temperaturas, que possibilitou enorme avanço na técnica de amplificação do DNA “in vitro”) e Thermotogales; bactérias fotossintéticas verdes metabolizantes do enxofre (Chlorobiaceae) e fototróficas filamentosas anoxigênicas (Chloroflexaceae), principalmente de sistemas aquáticos anóxicos. Um Filo que se destaca entre eles é o dos Plantomyces e relacionados, restritos a sistemas aquáticos, que, junto com as Chlamidia, são os únicos Filos de eubactérias com parede celular que não contém peptidoglicano.

Nos últimos anos, avanços significativos da Ciência foram realizados e vários grupos e gêneros, revisados e modificados. Com a continuidade desses avanços, é de esperar que muitas outras modificações sejam ainda realizadas desvendando a enorme diversidade e ampliando o conhecimento sobre esse importante grupo de organismos.

2.4. Eucariotos

2.4.1. Reino Protoctista

O nome desse Reino deriva-se do grego *protos* = primeiro e *Ktistos* = estabelecer. Compreende 30 Filos (Tabela 2.3), alguns dos quais, em outros sistemas de classificação, constam como pertencentes a Reinos diversos (e.g., algas vermelhas-Rhodophyta- e verdes-Chlorophyta: Plantae; Chytridiomycota, Myxomycota e Oomycota: Fungi). O Reino Protoctista engloba principalmente protozoários, algas, bolores e diatomáceas. A figura 2.3B mostra as relações filogenéticas entre a maioria dos Filos de Protoctistas e desses com Filos de outros Reinos de Eucariotos. Evidências indicam que, em termos evolutivos, os Protoctistas surgiram após a combinação de dois ou mais tipos diferentes de bactérias e foram os precursores dos Reinos mais evoluídos de Eucariotos, ou seja, Plantae, Animalia e Fungi. Em termos simples, esse Filo pode ser representado como o grande “caldo” experimental de combinações da natureza, de onde surgiram os Eucariotos mais evoluídos. Alguns grupos ainda apresentam evidências dessa transição. Os Myxomycota (bolores gosmentos celulares e bolores gosmentos verdadeiros), anteriormente classificados como Myxomicetos, por exemplo, são considerados organismos de transição entre fungos e protozoários, pois apresentam estruturas morfológicas similares a ambos os grupos (**Figura 2.18**). Da mesma forma, muitas espécies de euglenóides (Discomitochondria) e dinoflagelados (Dinomastigota) (**Figura 2.19**), consideradas protozoários, são fotossintéticas como as algas.

Os protozoários compreendem principalmente: as amebas (Rhizopoda), os ciliados (Ciliophora) e os flagelados (Discomitochondria e Dinomastigota). São organismos unicelulares, fagotróficos e com mitocôndria, com alta diversidade morfológica, assim como hábitos de alimentação. Eles podem alimentar-se de substâncias orgânicas dissolvidas e de outros animais, vivos ou mortos, exercendo, portanto, papel importante no equilíbrio biológico do solo. Muitas espécies são inteiramente predadoras de bactérias, leveduras, fungos, outros protozoários, rotíferos e algas. A reprodução pode ser assexuada (fissão binária ou múltipla) ou sexual. Os protozoários podem ser de vida livre, a maioria, ou sésseis, sendo que, algumas espécies de ambas as categorias formam colônias. Em condições ambientais desfavoráveis (e.g., diminuição na população de bactérias comestíveis, dessecação, baixa tensão de O_2), os protozoários entram em um estágio inativo: os cistos, que permitem sua sobrevivência. Gêneros encontrados predominantemente no solo são: as amebas (e.g., *Naegleria*, *Vahlkampfia* e *Hartmannella*), os zooflagelados (e.g., *Bodo* e *Oikomonas*), os ciliados (e.g., *Colpoda* e *Vorticella*), as testacea (e.g., *Arcella*) e outros da família Nebelidae. Flagelados e amebas são os mais numerosos, variando de 10^2 a 10^6 g⁻¹ de solo enquanto testacea variam de 10^2 a 10^5 . No solo, todos apresentam alta porcentagem de encistamento: até 50%, mais de 50% e maior que 70% para amebas e flagelados, testacea e ciliados respectivamente.

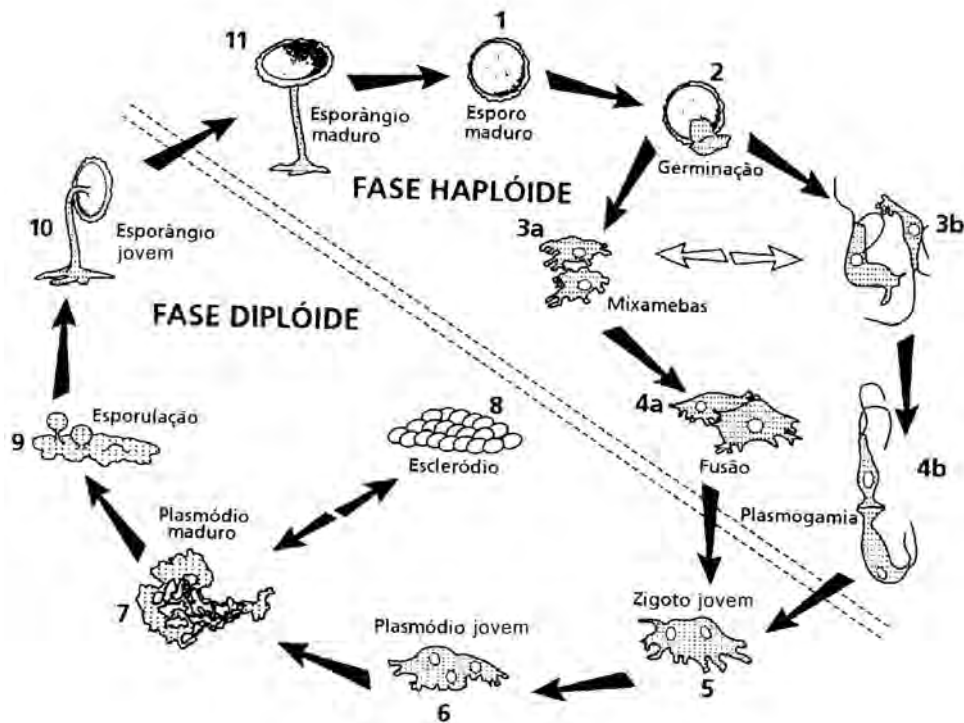


Figura 2.18. Ciclo de vida de um típico Myxomycota.

As algas verde-douradas (Xantophyta), as marrons (Phaeophyta), as diatomáceas e os oomicetos (Oomycota) são organismos fototróficos ou saprotróficos, unicelulares ou multicelulares exemplificados na **figura 2.20**. Suas características peculiares são: presença de cloroplastos no lúmen do retículo endoplasmático; ao contrário de se localizar no citosol como em Plantae, situa-se mais freqüentemente na cisterna perinuclear; além disso, os cloroplastos são separados do retículo endoplasmático rugoso pela membrana periplástica. Pêlos ciliares tubulares rígidos chamados mastigonemas estão presentes na maioria deles. Os oomicetos produzem esporos biflagelados dentro de um esporângio (**Figura 2.21**) e reprodução por gametângio, sendo de ocorrência generalizada no solo. Gêneros de oomicetos importantes como patógenos vegetais são: *Pythium*, *Plasmopara* e *Phytophthora*, considerados fungos até recentemente. As algas verdes (Chlorophyta) (**Figura 2.20**) e vermelhas (Rhodophyta) são classificadas no Reino Plantae em outros sistemas de classificação. Essas, comparadas a outros organismos em Plantae, têm uma distribuição mais ampla, podendo ser encontradas no solo, ou sobre ele, sobre rochas, lama e areia, campos de neve ou presas às plantas e animais. Quando ocorrem abaixo da superfície geralmente são formas dormentes, mas algumas organotróficas facultativas são conhecidas como *Chlorella* e *Chlamidomonas*. Algas são utilizadas na alimentação humana e animal e em indústrias de alimentos e farmacêutica. O ágar, produto amplamente adotado em laboratórios para confecção de meios de cultivo para diversos microrganismos, é produzido a partir de algas vermelhas.

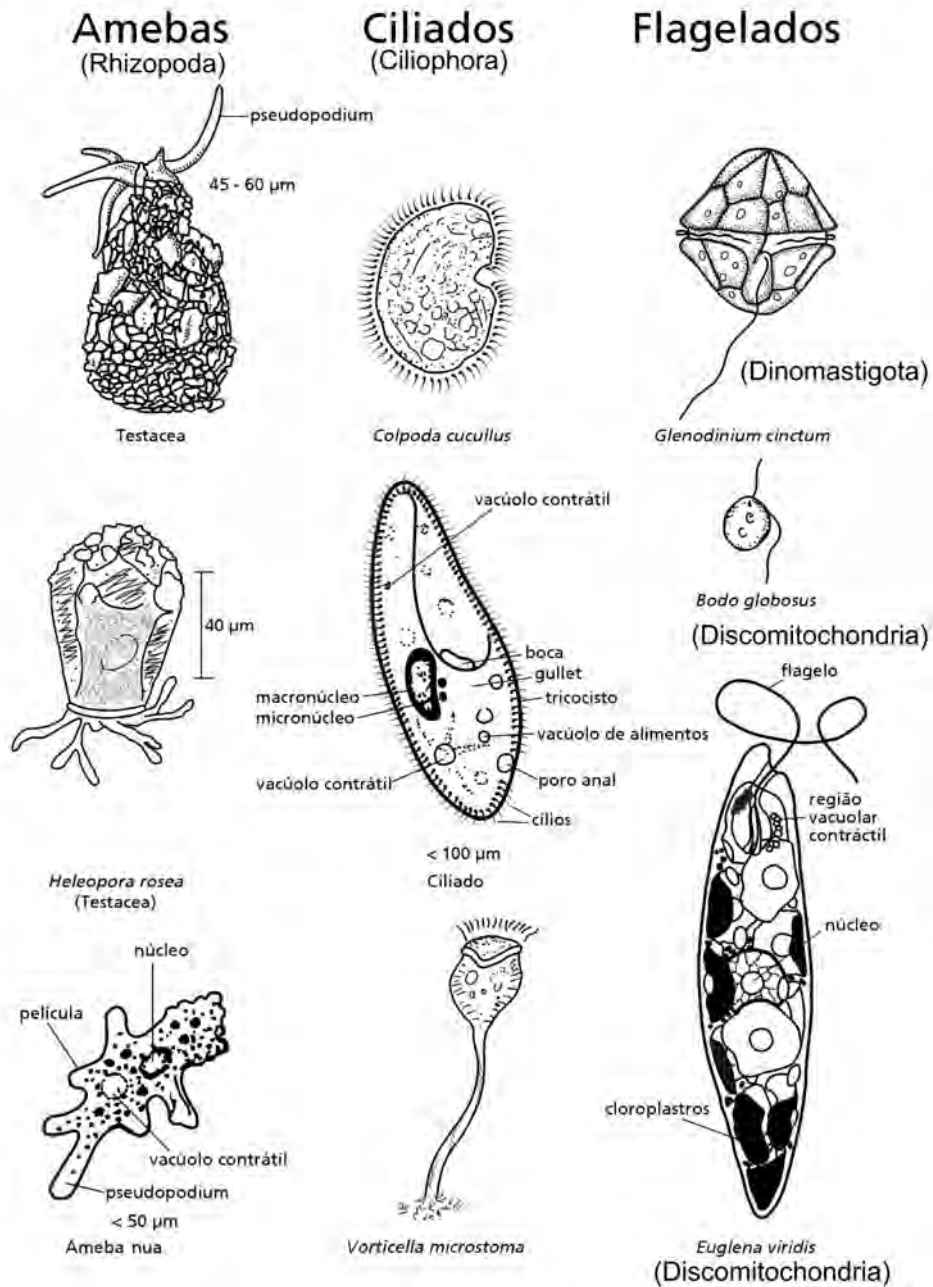


Figura 2.19. Diversidade morfológica de alguns protozoários (Protoctista).

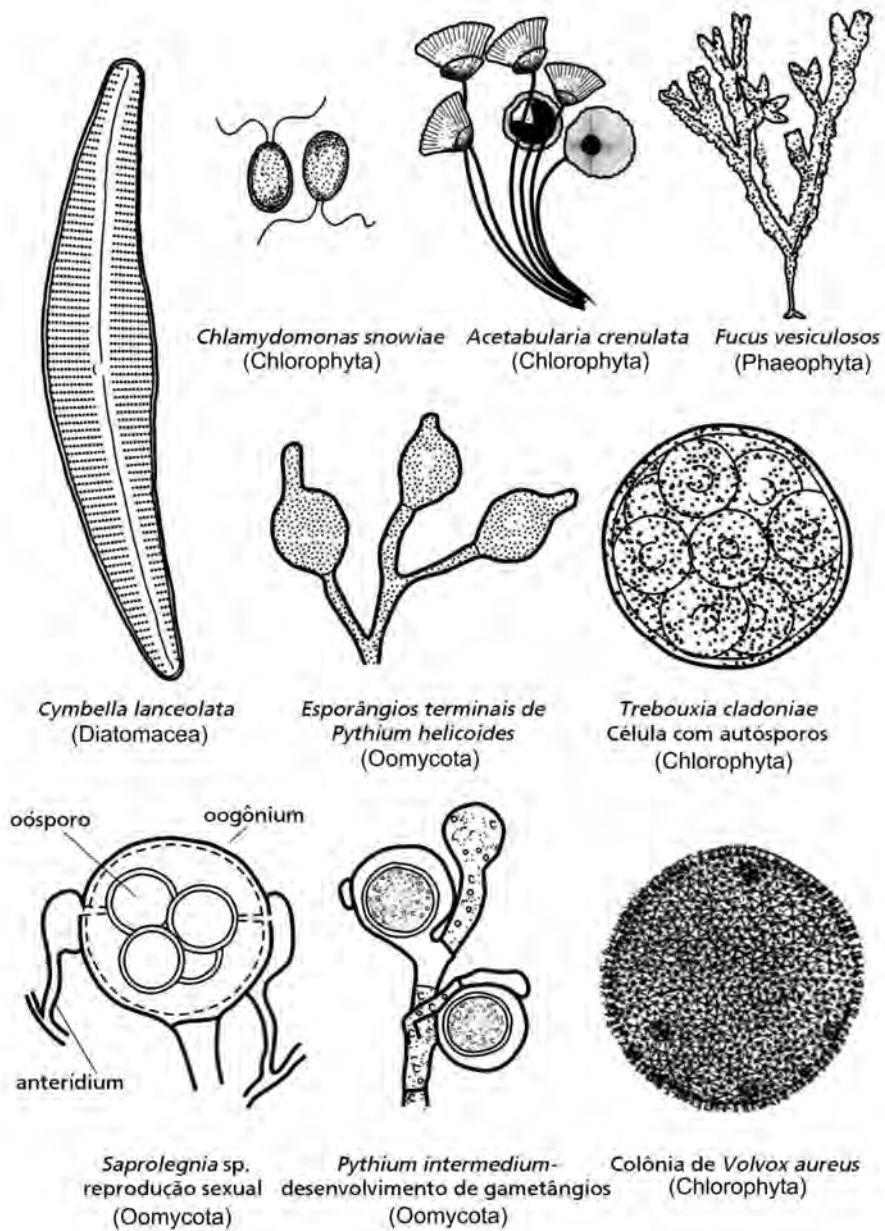


Figura 2.20. Diversidade morfológica de alguns Protocista.

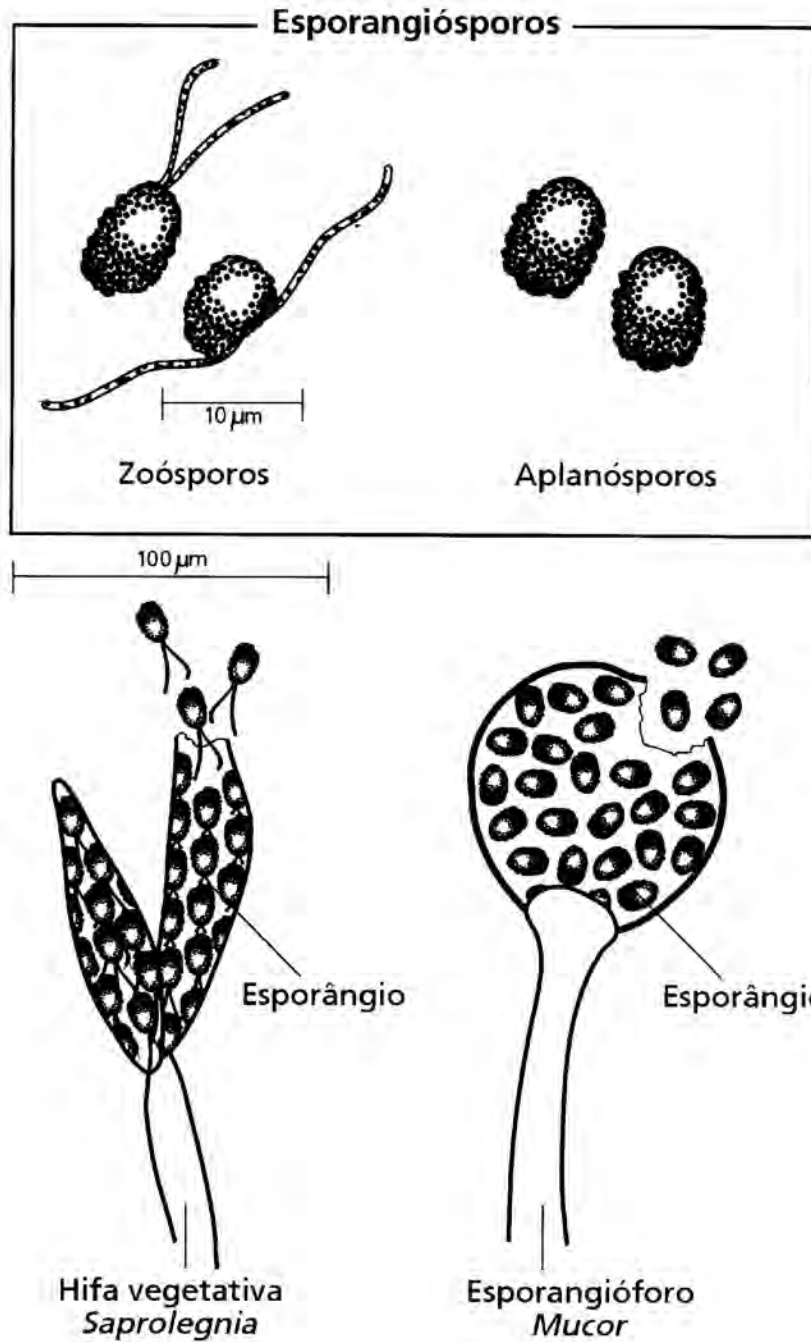


Figura 2.21. Esporos assexuais de um Protocista (*Saprolegnia*) e de um Zigomycota (*Mucor*).

2.4.2. Reino Plantae

Esse Reino compreende 12 Filos (Tabela 2.3) com número de espécies bastante variável; desde uma – Ginkgophyta – até 235.000 Anthophyta. Organismos de Plantae são caracterizados por plastídeos com envelopes duplos, e pela presença de amido nos plastídeos e no citosol. O Reino pode ser dividido em plantas avasculares (briófitas) e vasculares (traqueófitas), contendo, as últimas, 9 dos 12 Filos de Plantae, incluindo as plantas cultivadas para a alimentação humana. No contexto dos organismos do solo, as plantas exercem papel fundamental, pois, é a partir delas o principal aporte de matéria orgânica no solo que nutre a maioria dos organismos, que, é a quimioorganotrófica. Além disso, a maioria das espécies vegetais estabelece relações simbióticas com espécies microbianas, notadamente com os fungos micorrízicos e fixadores de nitrogênio atmosférico (ver capítulos 9 e 10).

2.4.3. Reino Fungi

A classificação atual dos fungos traz modificações acentuadas, uma vez que três grupos distintos estavam agrupados: 1 - os fungos sem parede celular, denominados “slime molds” ou bolores gosmentos (também: Mycetozoa, Myxameba, Myxomicetos e Myxomycota) que se alimentam de bactérias e outras partículas por fagocitose, como os protozoários, mas produzem esporos com parede celular, sendo considerados, por isso, como grupo de transição entre fungos e protozoários; 2 - os Oomycota que têm celulose em sua parede, além de outras características do Reino vegetal, e 3 - os chamados fungos verdadeiros que têm quitina na parede celular. Embora alguns autores ainda incluam o grupo 2 no Reino Fungi, nas classificações mais recentes apenas o grupo 3 é considerado fungo. Nesse grupo, os Deuteromycota, fungo sem fase sexual definida ou conhecida, são encontrados como divisão distinta em sistemas de classificação anteriores, mas já não são considerados como tal. Como apresentado, os Myxomycota e os Oomycota são classificados no Reino Protocista, por Margulis & Schwartz (1998), e em Protozoa e Chromista, por Cavalier-Smith (1998). Na classificação de Margulis & Schwartz, os Chytridiomycota estão classificados no Reino Protocista, no entanto, como muitos micologistas ainda o consideram no Reino Fungi, foram incluídos na tabela 2.23 para comparação com os demais Filos. Este Reino engloba ainda o recém proposto Filo Glomeromycota (Schüßler et al., 2001) que contém os fungos micorrízicos arbusculares, abordados neste livro com detalhes no capítulo 10.

Os fungos podem ser unicelulares e/ou filamentosos. Os unicelulares são as leveduras, distribuídas em dois Filos do Reino Fungi (**Tabela 2.22**), com diâmetro das células entre 1 e 5 μm . Cerca de 680 espécies de leveduras são conhecidas. Os fungos filamentosos consistem em hifas que se ramificam em várias direções coletivamente (**Figura 2.22**). O conjunto de hifas é denominado micélio. Fungos que podem existir com formas unicelulares e de hifas são chamados dimórficos.

A classificação dos fungos baseia-se em características morfológicas das hifas, corpos de frutificação e esporos, assim como seus ciclos de vida (**Tabela 2.23**). As hifas podem ser ramificadas ou não, septadas ou não, e comumente multinucleadas (**Figura 2.23**), com diâmetro entre 2 e 10 μm . A reprodução pode ser sexual ou assexual. Os fungos septados e que apresentam estágio dicariótico (Ascomycota e Basidiomycota) são chamados fungos superiores.

Tabela 2.22. Exemplos de gêneros de fungos unicelulares (leveduras) nos Filos e classes do Reino Fungi.

Filo/Classe	Gêneros
Filo Ascomycota	
Classes	
Archiascomycetae	<i>Saitoella, Schizosaccharomyces</i>
Euascomycetae	<i>Oosporidium</i>
Hemiascomycetae	<i>Candida, Hansenula,</i> <i>Pachysolen, Citeromyces, Metschnikowia, Dekkera, Pichia,</i> <i>Debaryomyces,</i> <i>Kluyveromyces, Saccharomyces,</i> <i>Saccharomycopsis, Lodderomyces, Lipomyces, Nadsonia,</i> <i>Saccharomycodes, Hanseniaspora, Wickerhamia</i>
Filo Basidiomycota	
Classes	
Hymenomycetae	<i>Bullera, Cryptococcus,</i> <i>Trichosporon, Sterigmatosporidium</i>
Urediniomycetae	<i>Leucosporidium, Rhodosporidium</i>
Ustilagomycetae	<i>Malassezia, Pseudozyma</i>

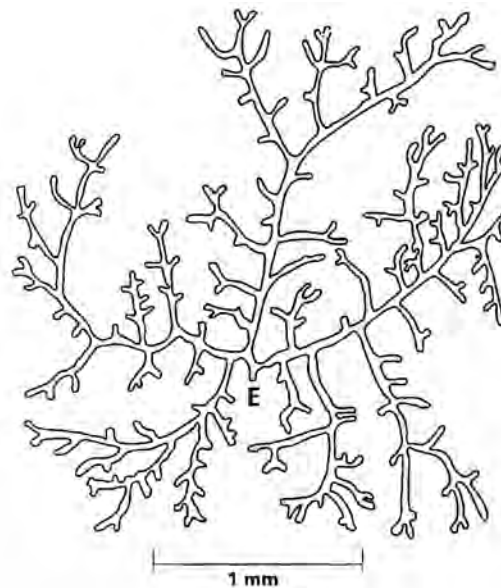


Figura 2.22. Micélio fúngico desenvolvido de um esporo (E) germinado após um dia de crescimento em ágar malte a 20°C. (Richard, 1974.)

70 Capítulo 2 · Os Organismos do Solo

Tabela 2.23. Filos do Reino Fungi e características principais.

Filo	Características	Gêneros representativos no solo
Chytridiomycota*	Zoósporos móveis uniflagelados polarmente; alguns parasitas de algas, plantas e larvas de insetos; decompõe celulose, quitina e queratina.	<i>Allomyces</i> <i>Rhizophydium</i>
Zygomycota	Também chamados "sugar fungi", por realizarem a fermentação de diversos carboidratos; não septados/ hifa cenocítica; esporângios com esporos assexuais internos e zigosporos com paredes espessas; maioria saprofíticos, alguns fitopatogênicos ou parasitas de outros fungos.	<i>Mucor</i> <i>Mycotropha</i> <i>Rhizopus</i> <i>Zygorhynchus</i>
Glomeromycota	Hifas cenocíticas (não septadas) a esparsamente septadas, produzem esporos com parede celular quitinosa e rígida. Esporos produzidos simples ou em grupos, bastante ou frouxamente unidos em esporocarpos. Formam simbioses com organismos fotossintéticos (plantas vasculares, não vasculares, algas e cianobactérias). Conhecidos como fungos arbusculares ou micorrízicos vesículo-arbusculares.	<i>Geosiphon</i> <i>Glomus</i> <i>Gigaspora</i> <i>Acaulospora</i> <i>Paraglomus</i>
Ascomycota	Sacos ou ascos contendo ascosporos formados por cariogamia e meiose; estádios sexuais; hifas septadas, exceto nas leveduras unicelulares; decompõem substâncias recalcitrantes, como celulose e lignina; formam líquens e micorrizas, alguns são fitopatógenos.	<i>Endothia</i> <i>Ceratocystus</i> <i>Claviceps</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Aspergillus</i> <i>Trichoderma</i> <i>Penicillium</i> <i>Helminthosporium</i> <i>Fusarium</i> <i>Arthrotrichum</i> <i>Rhizoctonia</i>
Basidiomycota	Hifas septadas, esporos sexuais produzidos por meiose, estando presos externamente a um basídio; muitos cogumelos, inclusive comestíveis; "ferrugens"; engloba maioria das ectomicorrizas; parasitas de plantas; decompositores vigorosos de material lenhoso, inclui os "orelhas-de-pau".	<i>Agaricus</i> <i>Poria</i> <i>Boletus</i> <i>Fomes</i>

*Classificado como Protoctista em Marbulis & Schwartz (1998).

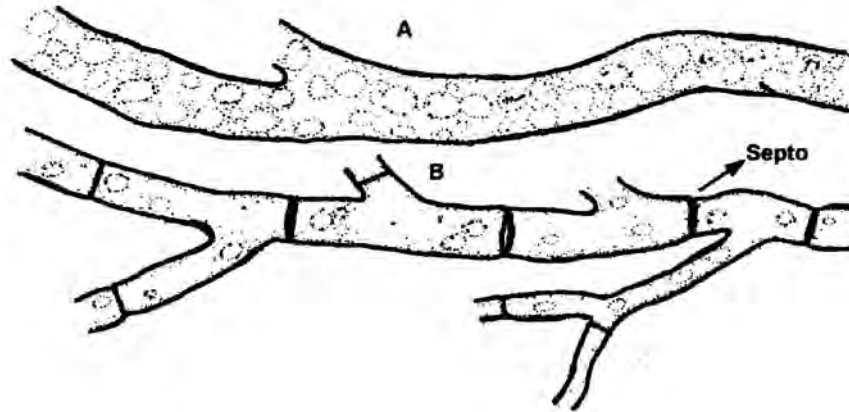


Figura 2.23. Hifa somática de fungos. A: Porção de uma hifa não-septada (cenocítica). B: Porção de uma hifa septada.

A reprodução assexuada pode ser por fissão ou brotação (fungos unicelulares: leveduras), fragmentação de hifa, clamidósporos ou conídios. Esporos assexuais são chamados conídios se produzidos em conidióforos e esporangiósporos, se produzidos em esporângios. Os esporos sexuais são produzidos após conjugação de hifas em estruturas chamadas gametângios, ascos ou basídios, sendo denominados, respectivamente, zigósporos, ascósporos e basidiósporos. Fungos sem fase sexual definida ou conhecida já foram classificados como Deuteromicetos e transferidos para Ascomicetos ou para Basidimicetos.

Os Chytridiomycota podem ser unicelulares ou formar cadeias de células ramificadas dicotomicamente com rizóides para apoio ou absorção. Geralmente são haplóides, mas alguns alternam haploidia e diploidia (respectivamente: células com uma só cópia (n) e com duas cópias ($2n$) dos cromossomos característicos da espécie). A reprodução assexuada é por zoósporos com flagelo posterior formado por clivagem citoplasmática em um esporângio. Em alguns casos, o talo inteiro converte-se em um esporângio; em outros, o esporângio forma-se sobre parte do talo. A reprodução sexual é por fusão dos gametas “macho” e “fêmea” móveis. A fusão produz um zigoto que pode ser um esporo em estágio de dormência ou crescer em uma geração somática diplóide que, posteriormente, produz esporângios em dormência (**Figura 2.24**).

Os Zygomycota têm geralmente micélios não septados, mas podem ocorrer septos em alguns subgrupos. A reprodução assexuada é por esporos não móveis formados em um esporângio sobre um esporangiósporo (Figura 2.21). A reprodução sexual é por fusão dos órgãos sexuais (gametângios) formados nas pontas de hifas aéreas especializadas (zigóforos). A fusão dos gametas produz um esporo dormente com paredes espessas denominado zigósporo., que germina após meiose, para formar uma hifa ou um esporângio (**Figura 2.25**).

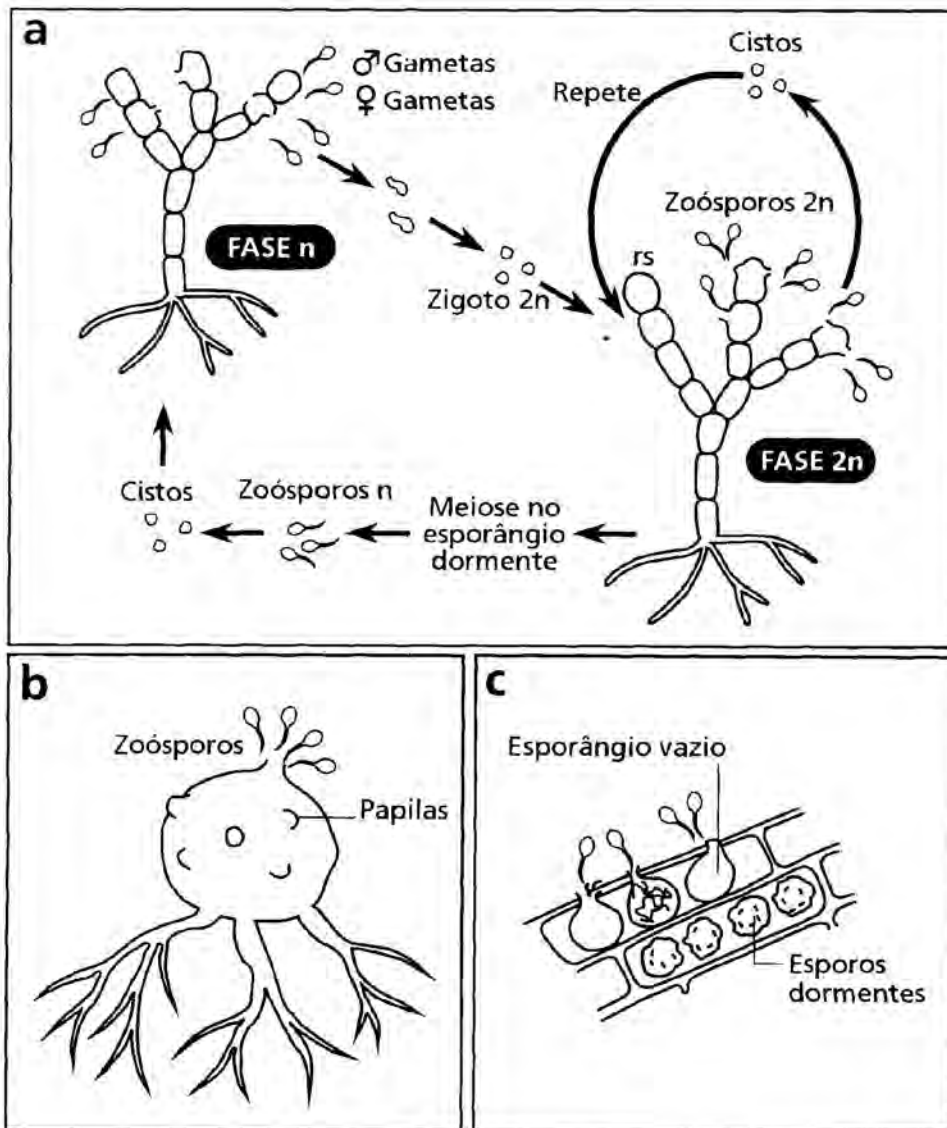


Figura 2.24. Ciclo de vida de um Chytridiomycota. (Modificado de Deacon, 1997.)

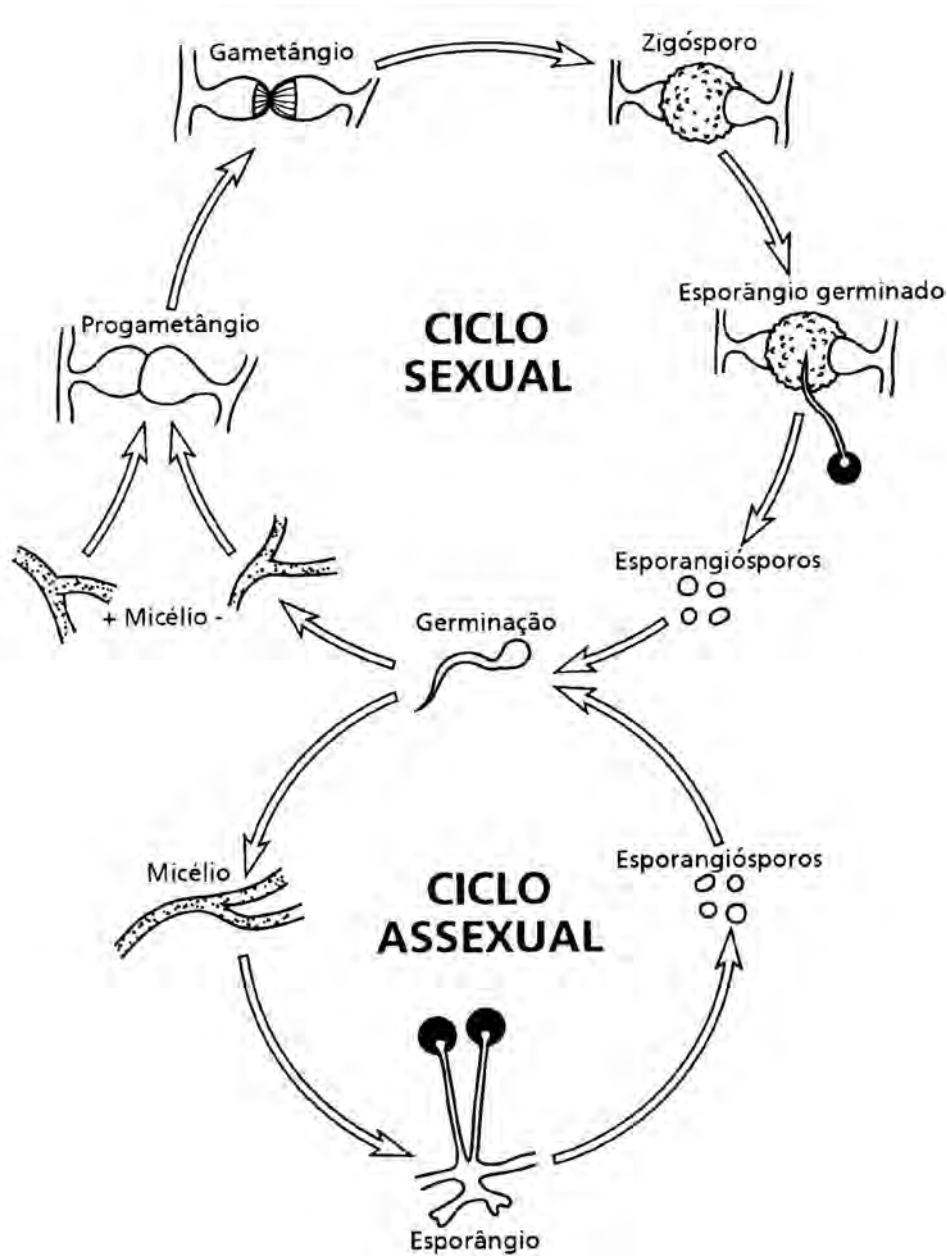


Figura 2.25. Ciclo de vida do Zigomiceto *Rhizopus stolonifer*. Esporângiosporos produzidos pela hifa somática são liberados quando a parede do esporângio se desintegra e germinam para produzir um micélio aéreo no qual esporângios se desenvolverão completando a fase assexuado. A reprodução sexual requer a conjugação de dois micélios diferentes, mas compatíveis, designados por - e +, com a formação de gametângios, dos quais, após fusão nuclear, surge um zigósporo de parede espessa. A meiose ocorre durante a germinação do zigósporo, de modo que a fase vegetativa do fungo é haplóide.

Os Glomeromycota possuem hifas coenocíticas a esparsamente septadas, e produzem esporos com parede celular quitinosa e rígida. Os esporos são produzidos simples ou em grupos, bastante ou frouxamente unidos em esporocarpos. Formam simbioses com organismos fotossintéticos (plantas vasculares, não vasculares, algas e cianobactérias). Com relação aos que formam simbiose com plantas, esses são conhecidos como fungos arbusculares ou vesículo-arbusculares. Fungos do gênero *Geosiphon* estabelecem simbiose com cianobactérias, abrigando-as em suas vesículas, sendo considerada uma forma primitiva de associação de fungo com organismos fototróficos.

Os Ascomycota são geralmente de micélio septado, mas formas unicelulares (leveduras) podem ocorrer. Geralmente haplóides, mas algumas leveduras alternam haploidia com diploidia (brotamento, fragmentação de hifas, extrusão de células etc.). A reprodução sexual é feita por fusão somática de hifas ou leveduras ou de um esporo macho com uma hifa fêmea, levando à produção de um ou mais ascos, nos quais núcleos se fundem para formar núcleos diplóides que sofrem meiose. A divisão mitótica posterior leva à produção de ascósporos, geralmente em número de oito (**Figura 2.26a**) que apresentam grande diversidade morfológica de esporos (**Figura 2.26b**). A reprodução assexual é feita por conídios formados de vários modos. A hifa que carrega os esporos (conidióforo) pode ser simples, ramificada ou agregada em um talo, surgir de tecido, ou estar encerrada em um picnídio (**Figura 2.27**).

Os Basidiomycota têm um septo complexo com doliporos e, algumas vezes, com grampos de conexão. Algumas espécies crescem como leveduras. São haplóides, mas o estágio somático principal tem núcleos em pares e é denominado dicário (heterocário com dois núcleos por célula). A reprodução assexual é por brotamento, fragmentação de hifas, artrosporos, oídios ou conídios.

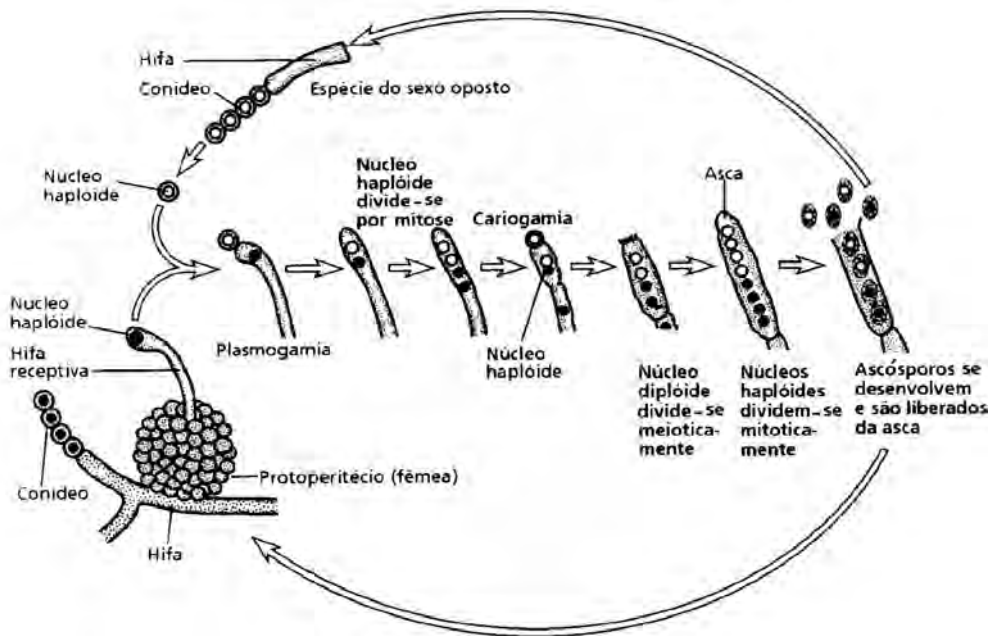
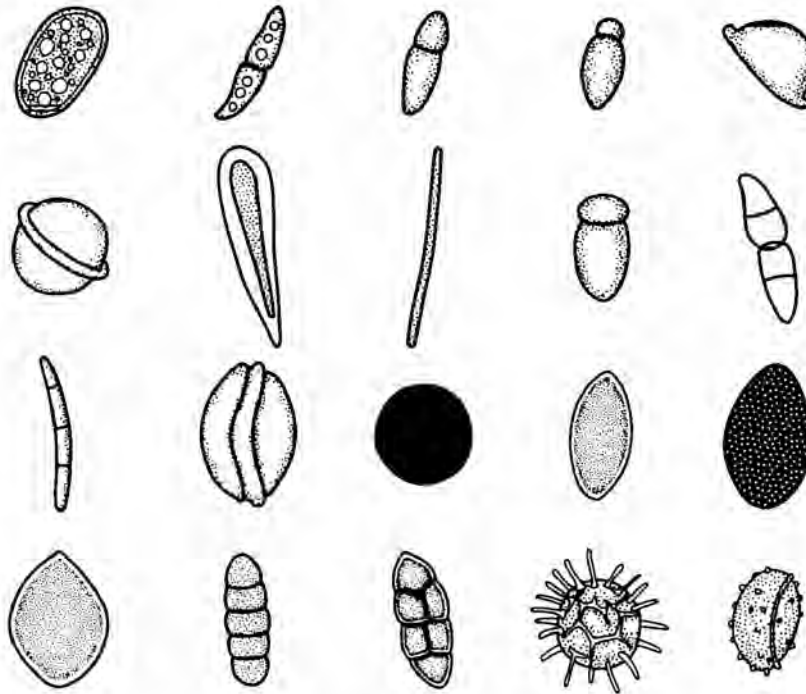


Figura 2.26 a. Ciclo de vida de um Ascomiceto.

Exemplos de tipos de ascosporos



Exemplos de tipos de ascos

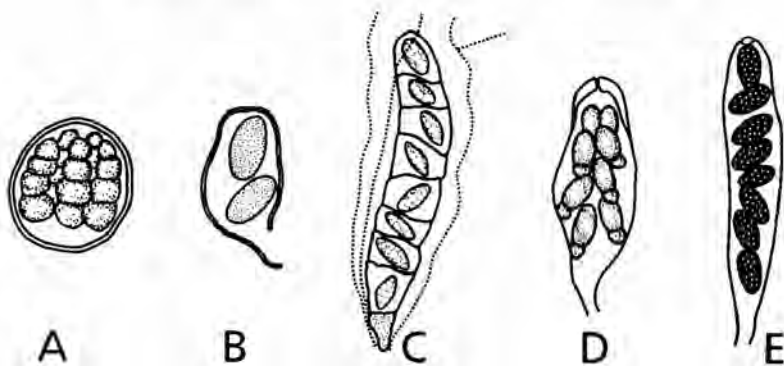


Figura 2.26 b. Vários tipos de ascos (A. Globoso, B. Amplamente ovalado com pedúnculo. C. Septado, D. Clavado, E. Cilíndrico) e ascósporos de Ascomicetos.

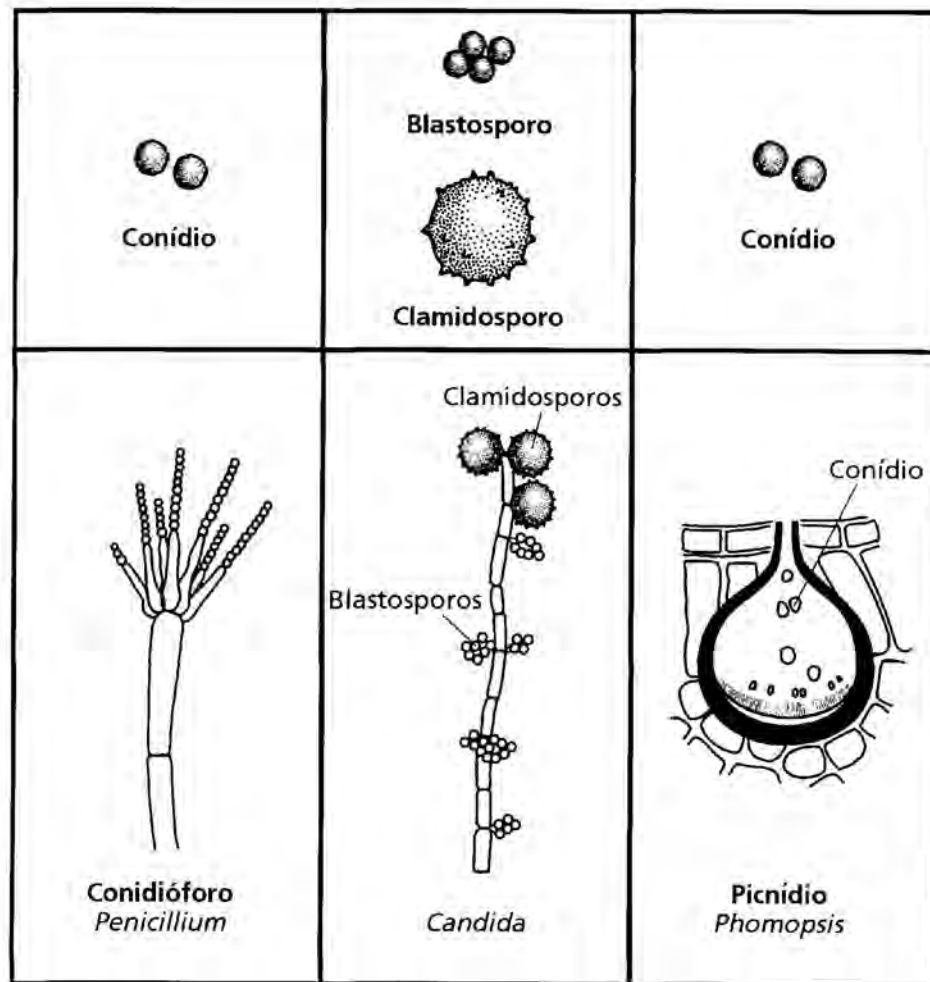


Figura 2.27. Esporos assexuais de Ascomycota.

As ferrugens podem formar dois tipos de esporos assexuais: uredósporos e aeciósporos. A reprodução sexual é por plasmogamia, ou seja, fusão de hifas somáticas de duas estirpes compatíveis chamadas monocarióticas (com um tipo nuclear). Após fusão, segue-se a divisão nuclear e migração de modo que cada compartimento da hifa fica com dois tipos de núcleo (dicariótica). Em resposta a mudanças ambientais, muitas espécies formam corpos de frutificação (Basidiocarpos = carpóforos), que variam de microscópicos a macroscópicos (**Figura 2.28**). Basídios desenvolvem-se nesses e o par de núcleos se funde em cada basídio (cariogamia) para formar um núcleo diplóide. Na meiose posterior, formam-se quatro núcleos haplóides que migram para os basidiósporos.

Os fungos são organismos quimiorganotróficos cuja principal função no solo é a decomposição de resíduos orgânicos; além disso, são patógenos importantes de plantas e animais, podendo agir como

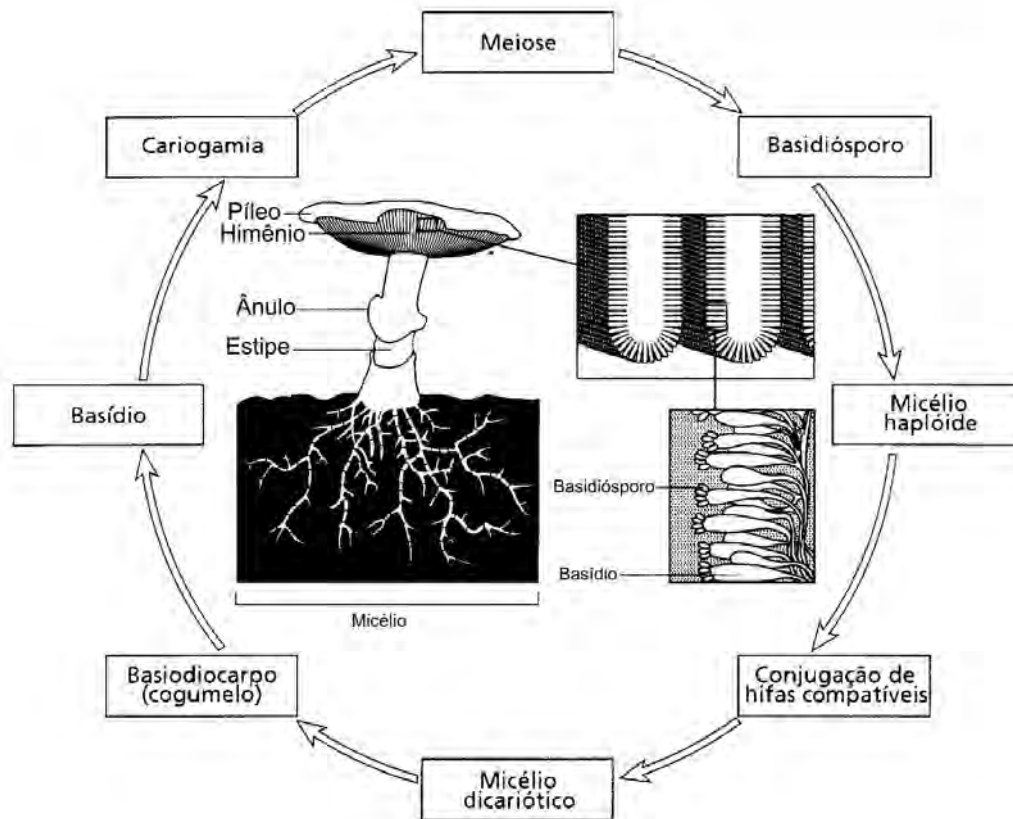


Figura 2.28. Ciclo de vida de um Basidiomycota.

agentes de controle biológico e formar simbioses mutualísticas com plantas (micorrizas) e algas verdes ou cianobactérias (liquens). São também fundamentais nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos. Apesar de aclorofilados, já foram comparados às plantas (Tabela 2.4) porque, de modo geral, têm parede celular, não são móveis (embora algumas espécies tenham células reprodutivas móveis) e se reproduzam por meio de esporos (do grego spora = semente, esporo). Além das diferenças anatômicas óbvias, uma importante diferença é com relação aos produtos de armazenamento: amido nas plantas e glicogênio nos fungos.

Liquens

São associações simbióticas entre fungos e algas verdes ou fungos e cianobactérias com um crescimento tão integrado que formam um corpo único não diferenciado com talo único (**Figura 2.29**). O fotossimbionte captura energia luminosa e, no caso das cianobactérias, também fixam nitrogênio atmosférico. O fungo absorve nutrientes minerais e auxilia na regulação de H_2O .

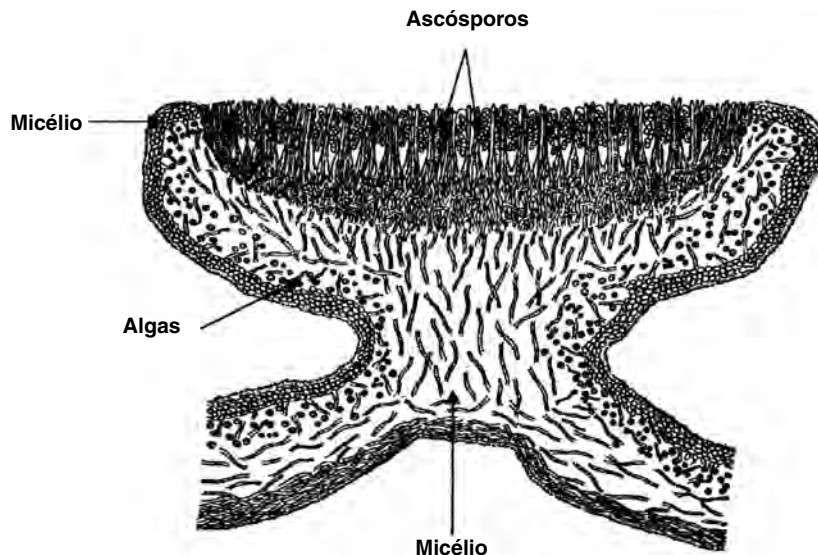


Figura 2.29. Seção transversal de um apotécio de uma espécie do líquen *Physcia*.

O fungo geralmente é um Ascomiceto, 98% dos quais formam esta simbiose, e, menos freqüentemente Basidiomicetos. São conhecidas 17.000 espécies e 650 gêneros de líquens, em 10% dos quais a simbiose é com cianobactérias. A alga verde é geralmente do gênero *Trebouxia* e a cianobactéria, do gênero *Nostoc*. Os subgrupos principais, com base no fungo simbiote, são: ascolíquens e basidiolíquens.

A simbiose permite a sobrevivência em locais onde os dois organismos não sobreviveriam separadamente como: rochas, postes, folhagem, troncos de árvores e telhados, entre outros. Por suas propriedades adaptativas, os líquens são os primeiros colonizadores de rochas nuas ou de material de origem de solos, por isso são importantes nos estágios iniciais de pedogênese. No Ártico, líquens são a principal forragem para renas no inverno. Como são sensíveis à poluição, servem de sensores ambientais perto de áreas industriais e cidades.

2.4.4. Reino Animalia

Este Reino engloba os animais multicelulares (Metazoa), distribuídos em 37 Filos, podendo os que ocorrem no solo ser agrupados, de acordo com seu tamanho, em micro, meso e macrofauna (Tabela 2.1), apresentando ampla diversidade (Tabela 2.3, **Figura 2.30**). Diferentes categorias de tamanho são encontradas na literatura para cada um desses grupos; adota-se, aqui, o critério mais recente publicado por Lavelle & Spain (2001). O grupo mais numeroso é o dos nematóides e o de maior biomassa, as minhocas, porém esses valores podem variar em função do tipo de solo, condições climáticas e uso da terra. Bouché (1977) dividiu a fauna em três categorias ecológicas:

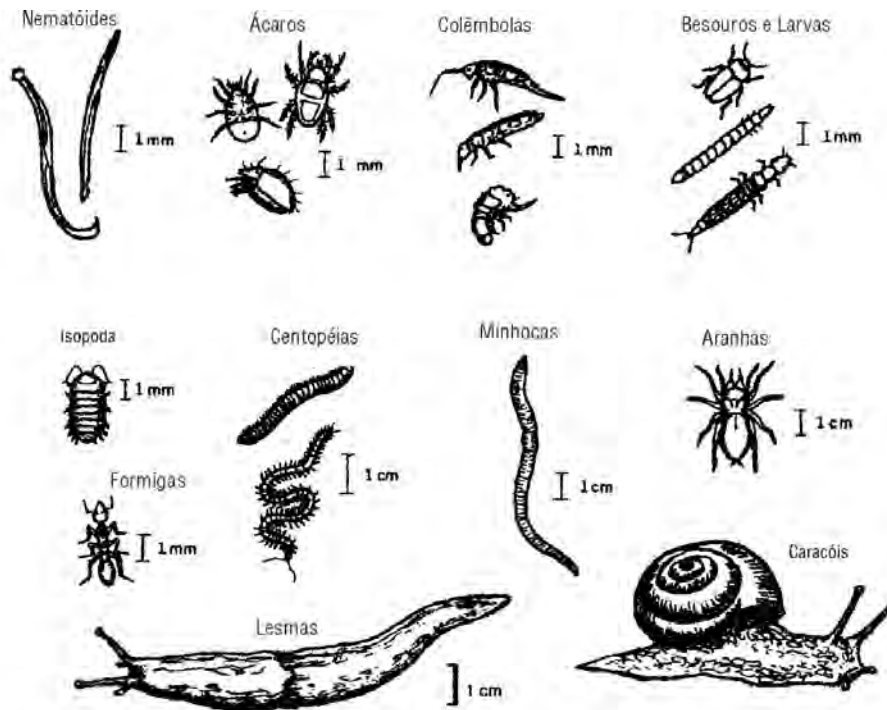


Figura 2.30. Exemplos de organismos que compõem a fauna do solo.

a) epigéicos – vivem e alimentam-se na serrapilheira da superfície. Incluem: artrópodos saprófagos, pequenas minhocas pigmentadas e predadores dessas espécies, como, chilopodos, formigas e alguns coleópteros que fragmentam a serrapilheira e participam da decomposição *in situ*;

b) anécicos – alimentam-se na serrapilheira, mas constroem galerias e ninhos subterrâneos. Incluem as minhocas pigmentadas e a maioria das espécies de cupins cuja principal função é transportar matéria orgânica da superfície para o subsolo;

c) endogéicos – vivem no solo. Incluem cupins e minhocas não pigmentadas que se alimentam de matéria orgânica e raízes e constroem galerias, ninhos e câmaras.

Outras três categorias foram sugeridas por Lavelle (1996):

a) micropredadores (microfauna, principalmente nematóides) – que ingerem os microrganismos;

b) transformadores de serrapilheira (mesofauna e alguns macroartrópodos, principalmente colêmbolas) – saprófagos que ingerem uma mistura de biomassa microbiana e matéria orgânica e produzem péletes fecais orgânicos (estruturas holorgânicas), nos quais a atividade microbiana é aumentada por condições favoráveis de umidade e mistura intensa que ocorrem no intestino do invertebrado;

c) engenheiros do ecossistema (principalmente cupins e minhocas) (Jones et al., 1997; Stork & Eggleton, 1992) – predadores, saprófagos e geófagos que constroem grandes estruturas compactas

(montículos e dejeções), agregados menores (depósitos superficiais e dejeções) e macroporos (galerias, ninhos e câmaras) que podem durar de vários meses a anos.

As principais funções da fauna no solo são: predação, controle biológico, parasitismo de plantas e animais, processamento da serrapilheira através de sua fragmentação que aumenta a área de superfície exposta ao ataque dos microrganismos, distribuição da matéria orgânica, de nutrientes e microrganismos (transporte vertical e horizontal da superfície para as camadas mais profundas), alteração das propriedades físicas do solo pela construção de galerias, ninhos e câmaras e alteração nas taxas de decomposição da matéria orgânica e de mineralização de nutrientes. A microfauna (que inclui os protozoários) é capaz de se mover através dos poros sem perturbar as partículas de solo e, portanto, não interfere nas propriedades físicas do solo. A mesofauna causa uma perturbação moderada, enquanto a macrofauna influencia significativamente as propriedades físicas do solo: os canais abertos por esses animais afetam as taxas de absorção e percolação de água, e, conseqüentemente, a aeração dos solos. São importantes, também, na disseminação de microrganismos no solo e na distribuição da matéria orgânica, tornando-a mais disponível para os microrganismos. Minhocas, por exemplo, podem afetar as populações dos microrganismos e da fauna, direta ou indiretamente, por três mecanismos: fragmentação, escavação do solo e dejeção; pastejo e dispersão, o que afeta o *status* físico-químico do solo.

2.5. Vírus

Vírus são moléculas de DNA ou RNA cobertas por camadas de proteína. Já haviam sido identificados no século XIX, pois passavam em filtros capazes de reter todos os tipos conhecidos de bactérias. Hoje sabe-se que sua diversidade é enorme, não só em forma como em tamanho (10 a 300 nm), sendo, portanto, menores ou iguais às menores bactérias: as clamídias, que têm 300 nm de diâmetro. São conhecidas cerca de 5.000 espécies de vírus, mas estima-se que existam 130.000.

Os vírus não são considerados organismos no senso estrito, pois não têm a capacidade de auto-reprodução ou crescimento. Só se multiplicam em células de diversos tipos de hospedeiros, onde inserem seus próprios genes, induzindo-os a produzir os componentes virais necessários para sua reprodução (**Figura 2.31**). Os vírus podem infectar todo o tipo de organismos, como microrganismos, plantas e animais, podendo o mesmo tipo de vírus infectar mais de um tipo de hospedeiro. No solo, podem persistir como formas dormentes que retêm a capacidade parasítica, inclusive de doenças humanas.

Os vírus têm sido utilizados como ferramentas da Biologia Molecular, sendo usados para transdução, ou seja, transferência de material genético entre células de diferentes hospedeiros. Entre eles, destacam-se os bacteriófagos (**Figura 2.32**). Outro uso potencial dos vírus é no controle biológico de pestes, plantas invasoras e doenças.

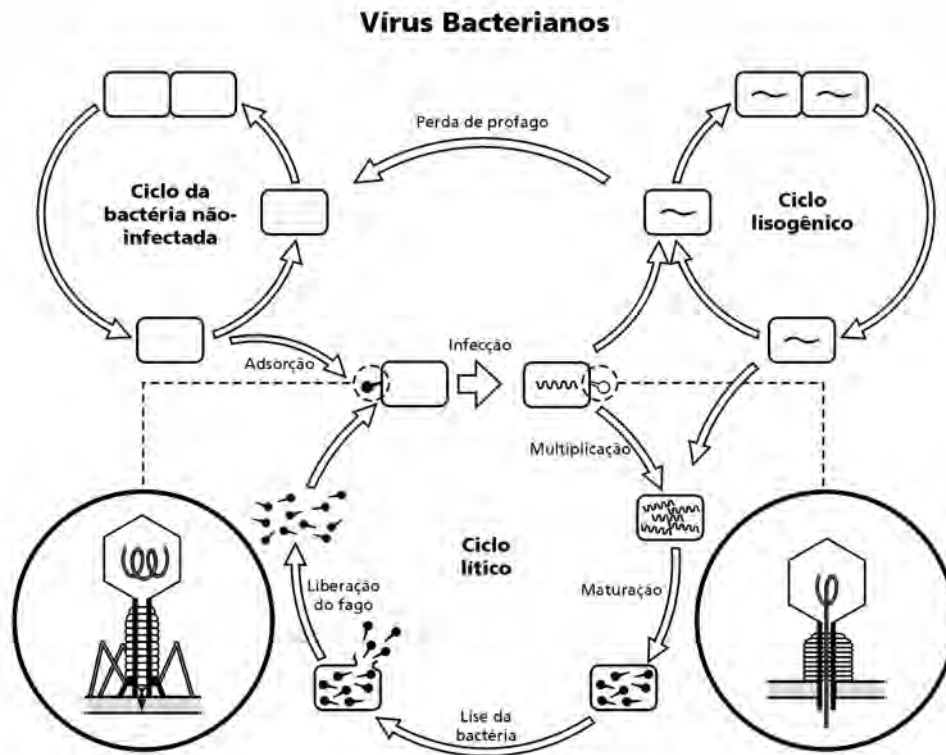


Figura 2.31. Ciclos vitais de um bacteriófago. Nos círculos à direita e à esquerda, detalhes do vírus adsorvendo a parede celular e injetando o ADN fágico na célula bacteriana.

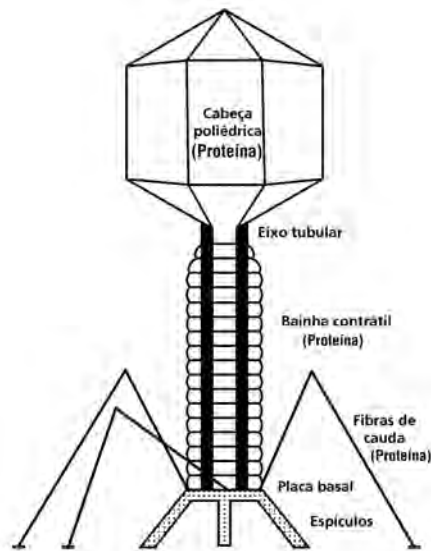


Figura 2.32. Morfologia do bacteriófago T2.

BIBLIOGRAFIA

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 1294p.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. Pt.I e II.

BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. (Ed.). **The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria, ecophysiology, isolation, identification, applications**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. 4v.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and its 18 Phyla. **Microbiological Reviews**, Washington, v.57, n.4, p.953-994, 1993.

CAVALIER-SMITH, T. Only six kingdoms of life. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, Series B - Biological Sciences, v.271, n.1545, p. 1251-1262, 2004.

CAVALIER-SMITH, T. A revised six kingdoms system of life. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**. v.73, n.3, p. 203-266, 1998.

DARNELL, J.E.; SODISH, H.; BALTIMORE, D. **Molecular cell biology**. 2.ed. Scientific American Books, USA, 1990. 1105p.

DEACON, J.W. **Modern mycology**. 3.ed. Oxford: Blackwell Science, 1997. 303p.

DINDALL, D.L. (Ed.). **Soil biology guide**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 1349p.

DORIT, R.L.; WALKER, W.F.; BARNES, R.D. **Zoology**. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1991. 1009p.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. 8.ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 1996. 986p.

MARGULIS, L.; SCWARTZ, K.V. **Five kingdoms: an illustrated guide to the Phyla of life on earth**, 3 ed., New York, W.H. Freeman and Company, 1998. 497 p.

MOAT, A.G. **Microbial physiology**. New York: John Wiley & Sons, 1979. 600p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CAB International, 2006. 280p.

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

PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. Rio de Janeiro: Makron Books do Brasil, 1997.

PRIEST, F.G.; GOODFELLOW, M. (Ed.). **Applied microbial systematics**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. 479p.

Capítulo 3

Ecologia do Solo

3.1. Conceitos gerais

Conforme verificado no capítulo anterior, os microrganismos apresentam versatilidade metabólica e toleram várias condições ambientais desfavoráveis para organismos macroscópicos; além disso, devido a seu tamanho diminuto, estão sujeitos à dispersão por vários meios (e.g. vento, água, animais). Essas são as principais causas da ubiqüidade dos microrganismos na natureza. No solo, a diversidade e a densidade microbiológica, assim como suas funções, estão relacionadas a características intrínsecas desse *habitat*, as quais serão abordadas em detalhe neste capítulo.

O solo é um *habitat* extremamente peculiar com relação a outros habitats terrestres, em vista de sua natureza heterogênea complexa e dinâmica. Tais características permitem que organismos com metabolismos díspares possam conviver lado a lado, 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. Essas mesmas características são o principal impedimento para a introdução de tecnologias de manejo biológico, cujo efeito no solo é, em muitos casos, impossível de prever. Nesse sentido, o solo pode ser considerado como uma “caixa-preta”, e muitos esforços têm sido feitos para o desenvolvimento de técnicas que possibilitem estudos visando identificar seus componentes abióticos e bióticos, além da interação entre eles e sua participação nos processos do solo.

Os componentes bióticos apresentam-se na seguinte ordem hierárquica:

Genes → células → órgãos → organismos → populações → comunidades → ecossistemas

Uma população consiste em muitos organismos de um mesmo tipo vivendo juntos e uma comunidade consiste em populações de tipos diferentes que vivem no mesmo lugar. As comunidades biológicas e os componentes abióticos (matéria e energia) do ambiente físico-químico formam os ecossistemas, que podem diferir em extensão; podem, ainda, ser bastante amplos como uma floresta, ou diminutos como o trato intestinal de uma minhoca ou a rizosfera de uma planta. O nicho ecológico compreende o espaço físico ocupado por um organismo, seu papel funcional na comunidade e suas características de adaptação a condições ambientais.

Ecologia do solo é a parte da biologia que tem por objetivo o estudo das relações entre os seres vivos com seu meio natural e da sua adaptação ao ambiente ou, segundo Odum (1971), é o estudo da estrutura e função do ecossistema. A estrutura compreende: a composição da comunidade biológica (número de espécies e de indivíduos, biomassa e distribuição espacial das populações), quantidade e distribuição dos componentes abióticos e faixa gradiente das condições ambientais. A função envolve processos relacionados com: fluxo de energia, ciclagem biogeoquímica e regulação mútua dos organismos e do ambiente.

Solo como habitat é um sistema heterogêneo, descontínuo e estruturado, formado por micro-*habitats* discretos com diferentes características químicas, físicas e comunidades biológicas. Tais características são altamente interdependentes, de modo que não se pode modificar nenhuma delas sem modificar as demais. Além disso, algumas podem ser medidas, enquanto a mensuração de outras não é possível com o conhecimento atual. O micro-*habitat* ou microssítio é o local particular – ou volume do solo – onde células, populações ou comunidades microbianas são encontradas e cujo *status* físico-químico (microambiente) influencia seu comportamento, que, por sua vez, também influenciam o ambiente dentro desse espaço.

Microambiente do solo é uma situação físico-química na qual a célula, populações ou comunidades microbianas em particular encontram-se num dado momento. Diversos fatores físicos e químicos atuam simultaneamente determinando as condições ambientais, que são dinâmicas, devido à interação dos diversos fatores.

Para entender melhor a ecologia do solo é importante ressaltar alguns dogmas:

- 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.

O equilíbrio biológico de um ecossistema baseia-se nas seguintes premissas:

Complexidade biológica → Garante relações diversas → Limita a explosão populacional → Gera equilíbrio, ou seja, uma elevada complexidade biológica garante relações diversas, as quais limitam a explosão populacional, gerando, assim, condições de equilíbrio biológico do sistema. A complexidade biológica é função direta da diversidade genética da comunidade, que é definida pelo número de espécies, indivíduos e processos. As relações entre os organismos tanto podem ser positivas como negativas. Estas últimas são necessárias porque evitam explosões populacionais. Uma comunidade em equilíbrio com seu ambiente sofre menor efeito de fatores externos e está sob estado denominado tampão biológico. A diversidade genética das comunidades também ocasiona diversidade funcional: a mesma função é executada por diferentes espécies, o que é denominado redundância funcional. Além disso, uma mesma espécie pode ter várias funções (ou seja, cada espécie participa de diferentes processos). A redundância contribui para a estabilidade dos ecossistemas. Assim, solos com comunidade diversa de organismos são mais resilientes, ou seja, recuperam-se melhor dos estresses porque, quando condições ambientais se

tornarem adversas para uma ou mais populações com a mesma função (i.e., executam o mesmo processo) outras populações adaptadas àquela nova condição ambiental poderão substituí-las na realização do mesmo processo, que assim poderá ter continuidade.

3.2. O solo como *habitat*

3.2.1. Componentes do solo: tipos, formas e dimensões

O solo é formado por três fases: líquida (água com materiais dissolvidos), gasosa (os mesmos gases da atmosfera, porém com diferentes proporções) e sólida, que é composta de partículas minerais, raízes de plantas, populações de organismos macro e microscópicos vivos e com metabolismo ativo ou dormente, e matéria orgânica em vários estádios de decomposição. A característica estrutural dominante é formada por partículas de diferentes tamanhos (areia, argila, cascalhos, calhaus, matacões), formas e arranjos. De modo geral, essa parte da fase sólida representa em torno de 45% do volume total; o espaço poroso (fase líquida e gasosa) 50% e, a matéria orgânica, 5% (incluindo os organismos vivos). A proporção entre as três fases, porém, varia em função do tipo de solo e das condições ambientais.

As partículas minerais do solo, assim como os componentes bióticos, têm tamanhos de 10^{-10} até 10^{-2} m (**Tabela 3.1**) com formas e arranjos diferentes estruturados em agregados e com poros entre si. A microestrutura é formada por argilas empacotadas formando os agregados primários: quase-cristais, domínios e assembléias, que são relativamente estáveis (**Figura 3.1**). Os poros existentes nessas estruturas não ultrapassam 100 nm e, portanto, estão acessíveis apenas a vírus e enzimas. O tipo de empacotamento é função da forma das partículas individuais. A principal influência abiótica na estrutura do solo é o potencial mátrico, relacionado com a capacidade de expansão e contração, principalmente nas argilas, e que é função não só do conteúdo de água no solo, mas, também, da absorção de água pelas raízes, influenciando a microporosidade (**Figura 3.2**).

A área superficial específica dos constituintes minerais e orgânicos do solo pode variar de menos de $0,01 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (areia e resíduos orgânicos) até mais de $800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (óxidos de ferro) (**Tabela 3.2**). Essa área é extremamente importante, pois, como será mostrado adiante, ocorrem interações de diversos tipos entre superfícies bióticas e abióticas. A porosidade é outro parâmetro importante relacionado não só ao conteúdo de água e gases no solo, como também, com a disponibilidade de espaços para os macro e os microrganismos.

3.2.2. Interações (relações) microrganismos–solo

Os microrganismos ocupam em torno de 0,5% do espaço poroso do solo, porém essa porcentagem aumenta significativamente no solo rizosférico devido ao aumento na disponibilidade de substrato, como se verá no capítulo 8. O solo não rizosférico é, por essência, um deserto nutricional; nele, a maioria dos organismos se encontra morta ou em dormência em vista da ausência de ingredientes necessários para seu metabolismo, principalmente, substratos orgânicos e ambiente químico-físico favorável.

Tabela 3.1. Dimensões aproximadas de componentes representativos do solo (Modificado de Metting Jr., 1992).

Componente	Diâmetro	Comprimento	Volume	Observações
Macroagregados	> 250 μm	μm a mm	10-100 mm^3	Por definição
Macroporos	>50 μm	μm a mm	Altamente variável	Por definição
Grãos de areia	1 – 2 mm		0,5 mm^3	Por definição
Microagregados	< 250 μm		10^6 - $10^9 \mu\text{m}^3$	Por definição
Clamidósporo de <i>Glomus</i>	200 μm		$4 \times 10^6 \mu\text{m}^3$	Fungo MA
Esporos de fungos micorrízicos	40-600 μm			
Pêlo radicular de trigo	10 μm	100 μm	$3 \times 10^5 \mu\text{m}^3$	
Pelet fecal de invertebrado	100 μm		$0,5 \times 10^6 \mu\text{m}^3$	Altamente variável
<i>Ditylenchus</i>	50 μm	1-2 mm	$350 \times 10^6 \mu\text{m}^3$	Nematóide
Protozoários	5-100 μm		10^3 - $10^9 \mu\text{m}^3$	
Tricoma de <i>Nostoc</i>	3-5 μm	10-100 μm		Cianobactéria filamentosa
Hifa de <i>Pisolithus</i>	2,5 μm	10-50 μm		Fungo ectomicorrízico
Vazios do solo	0,01 a vários μm	μm a mm	Altamente variável	Por definição
Partículas de silte	0,05 a 0,002 mm		60 - $65 \times 10^3 \mu\text{m}^3$	Por definição
Célula de <i>Saccharomyces</i>	5-10 μm		200 μm^3	Levedura
Hifa de <i>Actinomyces</i>	0,2-2,0 μm	1-20 μm		Actinomiceto/Actinobactéria
Bactérias unicelulares	300nm-10 μm		1 μm^3	Altamente variável
Partículas de argila	<0,002 mm		1 μm^3	Por definição
Bacteriófago	65 x 95 nm			
Partículas húmicas	0,01-1 μm			Altamente variável
Microfibrilas de celulose		1-5 μm		
Vírus	10-200 μm			
Camada dupla difusa	até 100 nm			
Enzimas do solo	100-1000 Å ²			



Figura 3.1. Empacotamento de partículas de argila em agregados primários. (Ladd et al., 1996.)

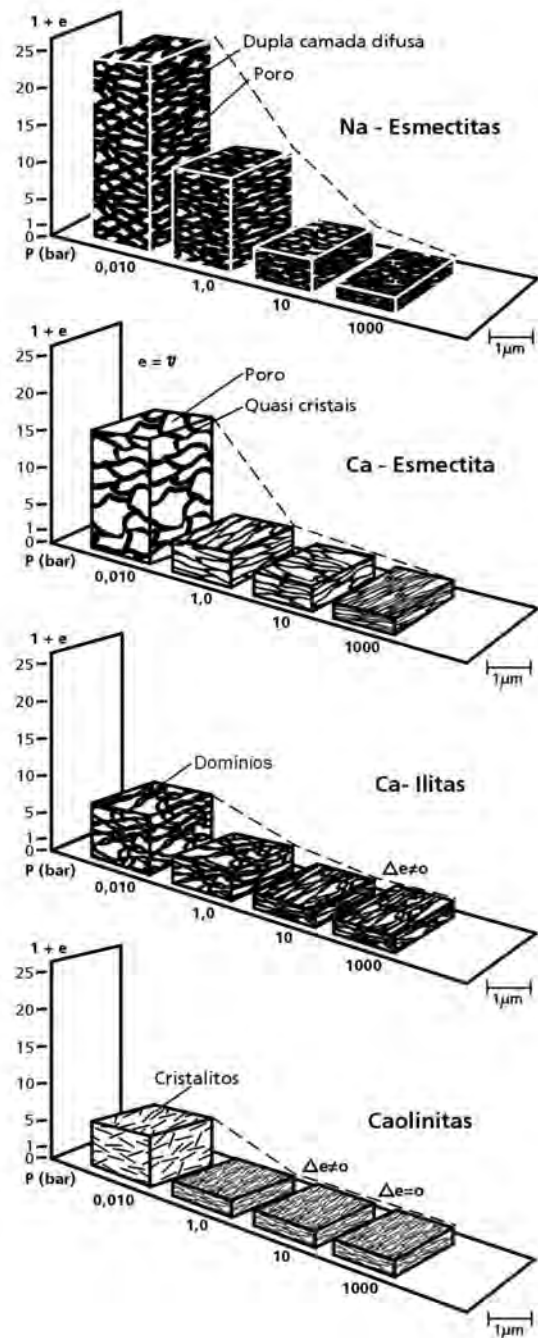


Figura 3.2. Variação na micrororganização e porosidade das argilas com o potencial mátrico; "e" é a razão de vazios e "n", a razão de água (em $\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$). (Robert & Chenu, 1992.)

Tabela 3.2. Área superficial e tamanho de frações dos constituintes do solo (Modificado de Robert & Chenu, 1992).

Área superficial específica	Constituintes minerais	Constituintes orgânicos e biológicos
< 0,01 m ² g ⁻¹0,05 a 2 mm	
	areia minerais primários quartzo, silicatos carbonatos	Fragmentos orgânicos
< 0,1 m ² g ⁻¹ < 50 µm	
	silte minerais primários quartzo, silicatos Carbonatos	Fragmentos orgânicos Colônias de microrganismos
10-800 m ² g ⁻¹ < 2 µm	
	argila microcristais de minerais primários filossilicatos originados: ilita, mica transformados: vermiculita, esmectita neoformados: caulinita, esmectita, óxidos e hidróxidos	Matéria orgânica amorfa substâncias húmicas biopolímeros Microrganismos bactérias esporos de fungos
> 800 m ² g ⁻¹ < 0,02 µm	
	argila fina minerais de argila expandidos minerais de argila interstratificados compostos cristalinos	

Por isso, são importantes: a natureza dos materiais que fornecem carbono, nutrientes e energia e a dinâmica dos fatores físico-químicos afetando o metabolismo celular e a disponibilidade de substrato. A microbiota heterotrófica utiliza resíduos de plantas, animais e outros microrganismos em vários estádios de decomposição. Materiais húmicos geralmente não são fonte de energia prontamente disponível devido à sua alta complexidade, porém são importantes como reservatório de N, P, C e outros elementos. Em vista da natureza oligotrófica dos micro-*habitats* estima-se que apenas 15 a 30% das bactérias e 2 a 10% dos fungos estejam em formas ativas com intensa competição por C. Assim, “turnover” do solo não rizosférico é de uma a oitenta gerações por ano para espécies de microrganismos que levam horas para se multiplicar no laboratório. *Rhizobium* spp. “*in vitro*”, por exemplo, tem tempo de geração entre 3,4 e 8,3 horas; já, em solo estéril, esse tempo é de 14 horas e, em não estéril é de 241 a 351 dias. O menor tempo de geração em solo estéril deve-se, principalmente, à ausência de relações antagônicas com outros organismos.

As bactérias, que têm geralmente diâmetro aproximado de 0,5 µm, localizam-se nos péletes fecais, na matéria orgânica, nos poros e no interior de agregados, e, os fungos, nos poros e fora dos agregados

(Figuras 3.3 e 3.4). A ocupação dos poros é função de seu tamanho e conteúdo de água. Poros com alguns micrômetros (2 a 6 μm) são adequados para entrada de bactérias, enquanto fungos necessitam de poros maiores. Já a microfauna pode ficar protegida dos predadores nos macroporos. Como o solo é um ambiente descontínuo, a acessibilidade aos nutrientes e substratos é mais importante que seu conteúdo total.

Os microrganismos, por sua vez, participam da gênese do *habitat* onde vivem. Nos estádios iniciais de formação do solo, carbono e nitrogênio são elementos deficientes; desse modo, espécies fotossintéticas e fixadoras de nitrogênio (e.g., cianobactérias, líquens) são importantes colonizadoras primárias de rochas. Além da agregação, estão também envolvidos no intemperismo através de participação em reações que liberam prótons, nutrientes inorgânicos e ácidos orgânicos.

3.2.3. Interações de superfícies entre microrganismos e partículas do solo

Como já mencionado, as partículas do solo variam bastante com relação a sua área superficial específica. Essas superfícies variam também em propriedades como a capacidade de troca de cátions e o tipo dominante de carga (+, - ou sem carga) importantes em sua interação com microrganismos. Estes, por sua vez, têm propriedades superficiais específicas relacionadas ao tipo de carga dominante, à natureza dos compostos orgânicos excretados e à existência de grupos ionogênicos da superfície celular que determinam o tipo de ligação com as partículas. A interação entre superfícies de

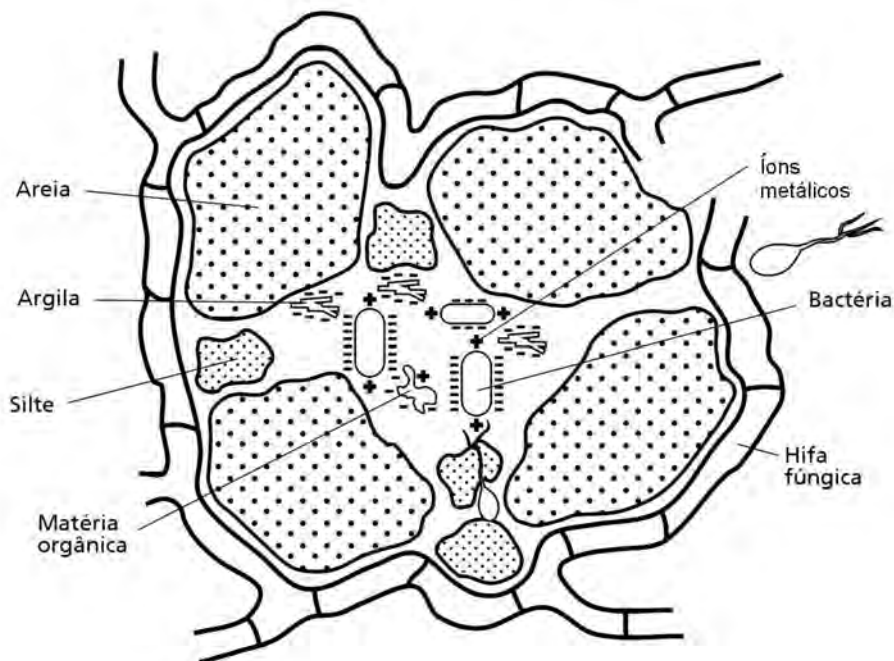


Figura 3.3. Localização de bactérias e fungos em agregados do solo.

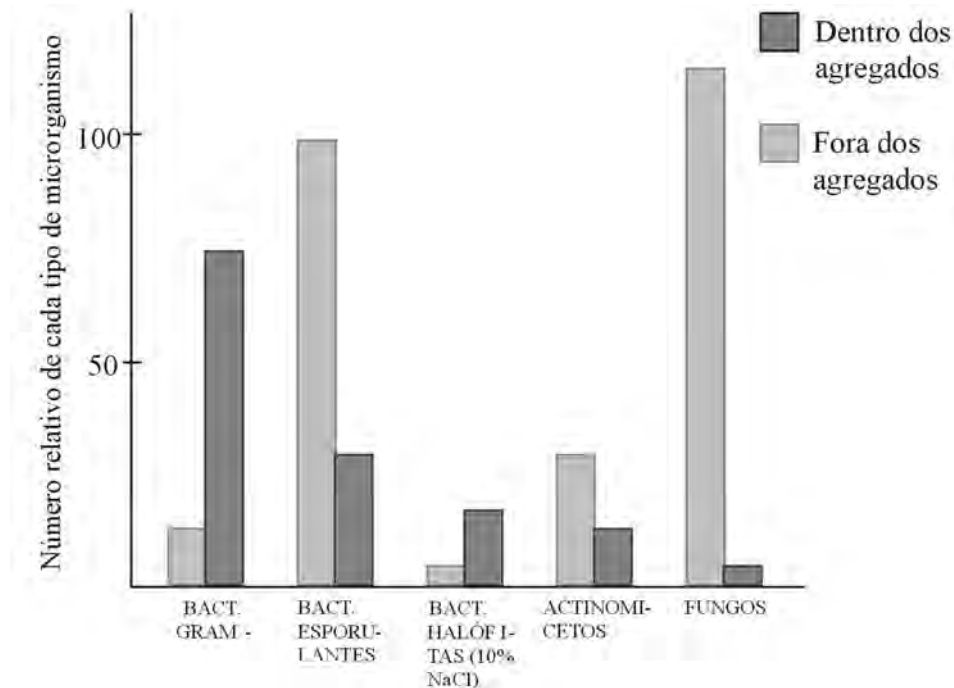


Figura 3.4. Localização de diferentes tipos de microrganismos em agregados do solo. (Hattori & Hattori, 1976.)

microrganismos e colóides afeta aspectos importantes da ecologia microbiana, como sobrevivência, sucessão e interações entre organismos, além de sua atividade (**Tabela 3.3**). A adesão de organismos a superfícies permite-lhes explorar melhor os nutrientes que os não aderidos. Além disso, ficam, de certo modo, protegidos e menos sujeitos a ser removidos do *habitat*, como, por exemplo, pela água.

A **figura 3.5** ilustra os vários tipos de interações entre bactérias e superfícies sólidas do solo. Essa interação ocorre através de vários mecanismos, (Burns, 1979) a saber:

- a) carga negativa da superfície da célula com carga positiva da argila;
- b) carga positiva da célula com pH baixo e carga negativa da argila;
- c) NH_3^+ da célula bacteriana e carga negativa da argila;
- d) grupos R-COOH com cátions divalentes adsorvidos nas argilas;
- e) interações eletroestáticas com colóides orgânicos;
- f) produção de exopolímeros, substâncias gomosas e fibrilas de celulose;
- g) argilas embebidas em exopolissacarídeos de outros microrganismos e plantas;
- h) camadas limosas (dessecação);
- i) projeções celulares (flagelos, pilli, prosteca).

Tabela 3.3. Algumas propriedades dos colóides do solo que influenciam a atividade microbiana (Burns, 1979).

ARGILAS	<i>Comum aos dois tipos de colóides</i>	ORGÂNICOS
<ul style="list-style-type: none"> - adsorvem metabólitos tóxicos - adsorvem antibióticos - imobilizam cátions orgânicos - catalisam síntese não biológica - protegem os micróbios fisicamente - imobilizam partículas de fagos 	<ul style="list-style-type: none"> - possuem grande área superficial - concentram e trocam nutrientes inorgânicos - concentram e trocam nutrientes orgânicos - retêm água - catalisam hidrólise não-biológica - envolvidos na formação do ambiente do agregado - atuam como tampão (adsorção de H⁺) 	<ul style="list-style-type: none"> - fontes de nutrientes orgânicos per si - estabilizam exoenzimas - adsorvem substratos lipofílicos - auxiliam a absorção de íons - têm propriedades bacteriostáticas - incorporam substratos - estimulam quimiotaxia

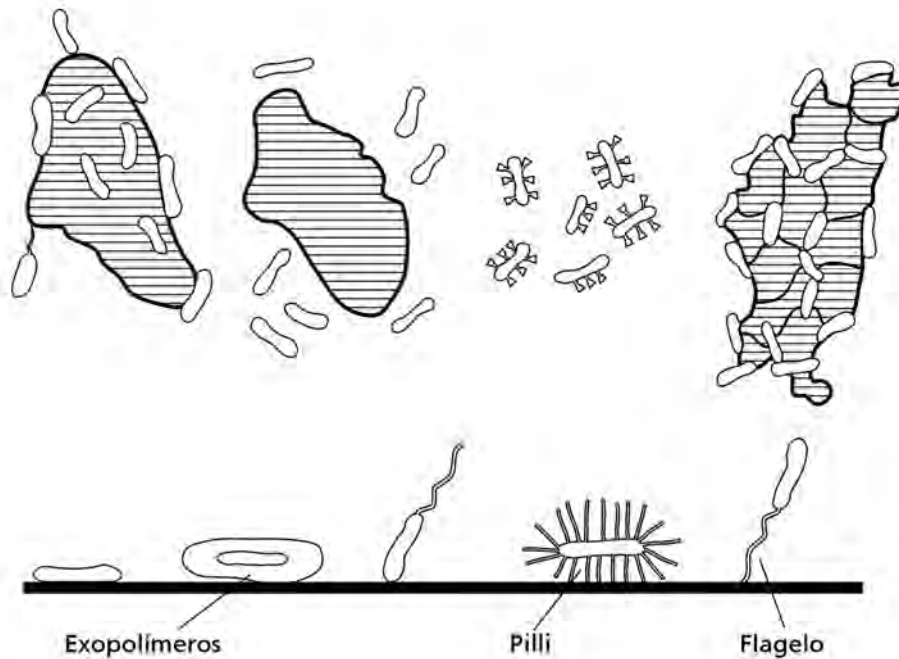
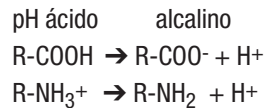


Figura 3.5. Vários tipos de sorção de células bacterianas em superfícies sólidas. (Zvyaginstsev, 1973, *apud* Hattoti & Hattori, 1976.)

Os mecanismos de c a i são responsáveis pelas ligações entre superfícies negativas e, em alguns deles, a carga final é dependente do pH e, mais especificamente, do ponto isoelétrico. Nas equações a seguir é apresentada a predominância de cargas positivas no pH ácido e de negativas no alcalino. A predominância de cargas positivas nas células microbianas aumenta a estabilidade do complexo argila-bactéria, uma vez que a maioria das argilas tem carga líquida negativa. O ponto isoelétrico pode variar entre as espécies bacterianas. Para *Bradyrhizobium* sp. (*de Lupinus* spp.), por exemplo, está em pH 4,0, enquanto, para *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii*, em pH 2,0.



Pilli são estruturas morfológicas bacterianas mais curtas e grossas que os flagelos. As bactérias têm dois tipos de pílus: os sexuais (1 a 2 por bactéria), através dos quais efetuam-se trocas de DNA entre células, e os pilli de fixação que são numerosos e podem fixar bactérias tão fortemente a superfícies que raramente é possível isolá-las devido à dificuldade de serem liberadas das partículas. Prostecas são pequenos apêndices semi-rígidos da célula bacteriana que ocorrem em alguns gêneros (Figura 2.10., e.g. *Caulobacter*, *Prosthecomicrobium*, *Rhodospirillum rubrum* e *Asticcaulis*). As camadas de exopolissacarídeos têm propriedades adesivas que aumentam a adesão e a formação de agregados de células e argilas; podem também aumentar a resistência ao dessecação, diminuir a suscetibilidade à ingestão por predadores, fornecer fonte de carbono e orientar as células para exposição ao O₂, pois são hidrofóbicos.

Além das células, os substratos também interagem com as partículas coloidais, ficando mais ou menos concentrados ou acessíveis para os microrganismos. Tanto efeitos positivos como negativos são decorrentes dessas interações. Como efeitos positivos podem-se citar: aumento da concentração de substratos orgânicos e inorgânicos no micro-*habitat*, no contato célula e substrato, tamponamento contra mudanças de pH, retenção de água e proteção contra predadores. Nessas situações, porém, podem ocorrer redução na disponibilidade de O₂ pelo aumento de viscosidade, polimerização de substratos orgânicos, inativação de enzimas e imobilização irreversível das células, impedindo-as de se locomoverem em outros sítios.

3.2.4. Enzimas

As enzimas do solo têm origem tanto de micro como de macrorganismos, incluindo plantas e animais, sendo a biomassa microbiana a fonte primária das enzimas. Elas podem se dividir, basicamente, em duas categorias: endocelulares e abiônticas (incluindo as extracelulares) (**Figura 3.6**). O termo abiônticas não é usado em relação a sua origem, mas ao fato de estarem fora da célula viva. Algumas enzimas só são encontradas em células vivas. Entre estas, podem-se citar as desidrogenases, enzimas da membrana envolvidas no processo de transporte de elétrons que é acoplado à síntese de

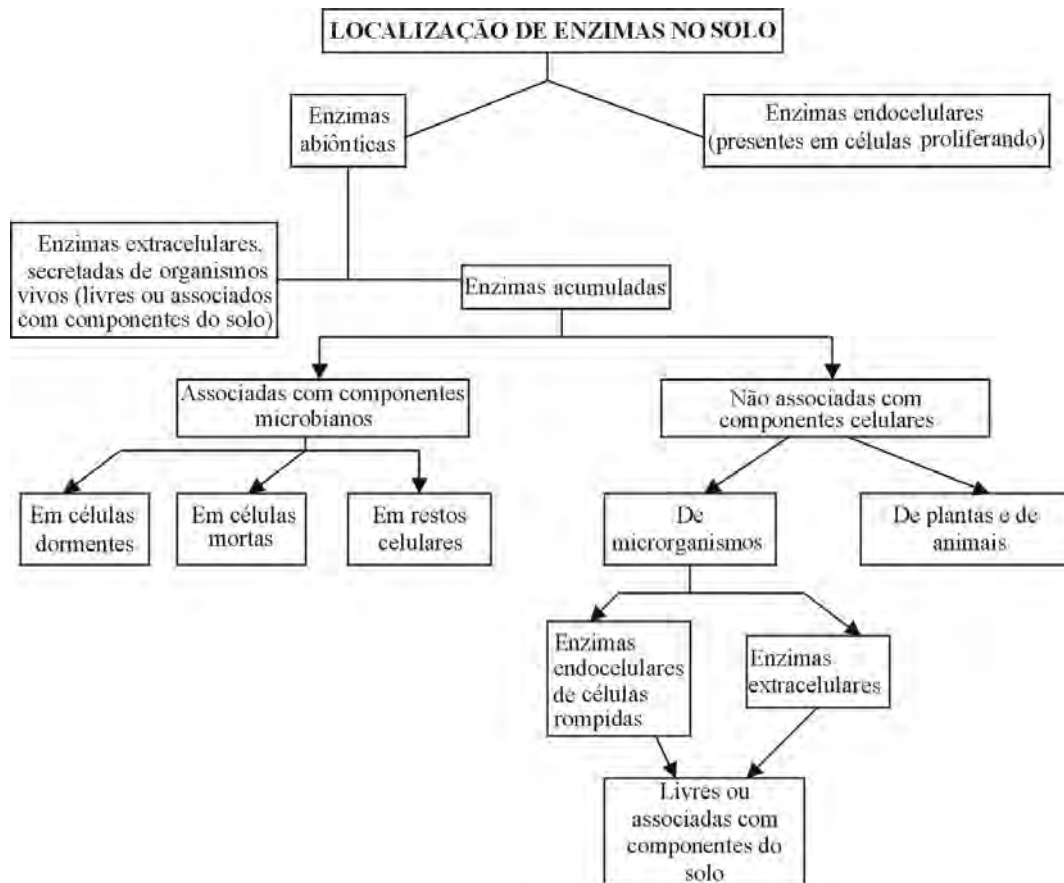


Figura 3.6. Localização da atividade enzimática no solo.

ATP, e que, por isso, podem ser empregadas como medida da atividade biológica. As enzimas mais estudadas são as oxirredutases, transferases e hidrolases devido ao seu envolvimento em processos de degradação da matéria orgânica e liberação de nutrientes. Já as liases são importantes em processos de síntese da matéria orgânica. Aspectos funcionais das enzimas no solo e os substratos das reações que catalisam são abordadas nos capítulos 4 e 5.

Os agregados e suas argilas influenciam a interação das enzimas com seus substratos. Se estiver a matéria orgânica do solo fisicamente separada dos microrganismos e de suas enzimas, essa não será mineralizada. As enzimas abiônicas têm vida mais curta, pois ficam mais vulneráveis à degradação e à imobilização nas superfícies dos colóides, embora a imobilização possa protegê-las também contra a degradação (e.g., hidrólise por outras enzimas) e desnaturação ao custo de

perda de atividade, pois o sítio catalítico ficará menos disponível. Por exemplo, pequenas moléculas, como a uréia, podem difundir-se mais rapidamente, enquanto grandes moléculas se difundirão mais vagarosamente. Os vários tipos de imobilização e proteção de enzimas que podem ocorrer no solo são: adsorção, enredamento, microencapsulamento, troca iônica, ligação cruzada, adsorção e ligação cruzada simultâneas, copolimerização e ligação covalente, todas ilustradas na **figura 3.7**. A ligação das enzimas e argilas se dá principalmente por ligações de hidrogênio e é função das propriedades das proteínas (ponto isoelétrico, número de sítios de ligação, solubilidade, forma e tamanho) e das argilas (área, carga superficial, natureza dos cátions). A **figura 3.8** ilustra um modelo de ligação hidrofóbica de enzimas de diferentes cargas com argila do tipo esmectita. Nesse caso, as enzimas estão adsorvidas tanto a superfícies internas como externas. Exemplos de enzimas desse tipo são ureases e proteases. A **tabela 3.4** sintetiza os vários mecanismos pelos quais microrganismos, enzimas, substratos, produtos e íons inorgânicos se tornam associados com superfícies do solo. A estabilidade das enzimas quando associadas a colóides húmicos do solo é explicada por vários mecanismos, como: troca iônica, ligações de hidrogênio, reações lipofílicas e ligações covalentes. No entanto, a liberação das enzimas dos complexos húmicos nos processos de extração nem sempre é bem sucedida, o que é atribuído à existência de mecanismos desconhecidos que tornam a imobilização dessas enzimas bastante estável, dificultando sua purificação.

Além das interações entre superfícies, os organismos podem habitar interfaces líquido-sólido, líquido-gás e gradientes de diversos tipos (e.g., temperatura, potencial redox, radiação, pO_2). A flutuação (devida a vacúolos gasosos) e a mobilidade (por flagelos ou deslizamento) permitem aos organismos que se dirijam ou se mantenham em camadas adequadas de determinado gradiente ou ambiente para o qual são atraídos ou que se afastem daqueles dos quais são repelidos. O movimento de um organismo para perto ou para longe de um estímulo particular é denominado "taxia", que inclui quimiotaxia (atração/repulsão por compostos químicos), aerotaxia (atração/repulsão por concentrações de oxigênio específicas), fototaxia (atração/repulsão por intensidade luminosa), magnetaxia (atração/repulsão por campos magnéticos). Animais também servem de *habitats* para diversos organismos. O trato intestinal de herbívoros, cuja dieta é rica em celulose, hemicelulose e pectina, mas pobre em proteína, é rico em microrganismos capazes de degradar tais produtos. Em alguns casos, como no trato intestinal de cupins, diversas espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico já foram detectadas.

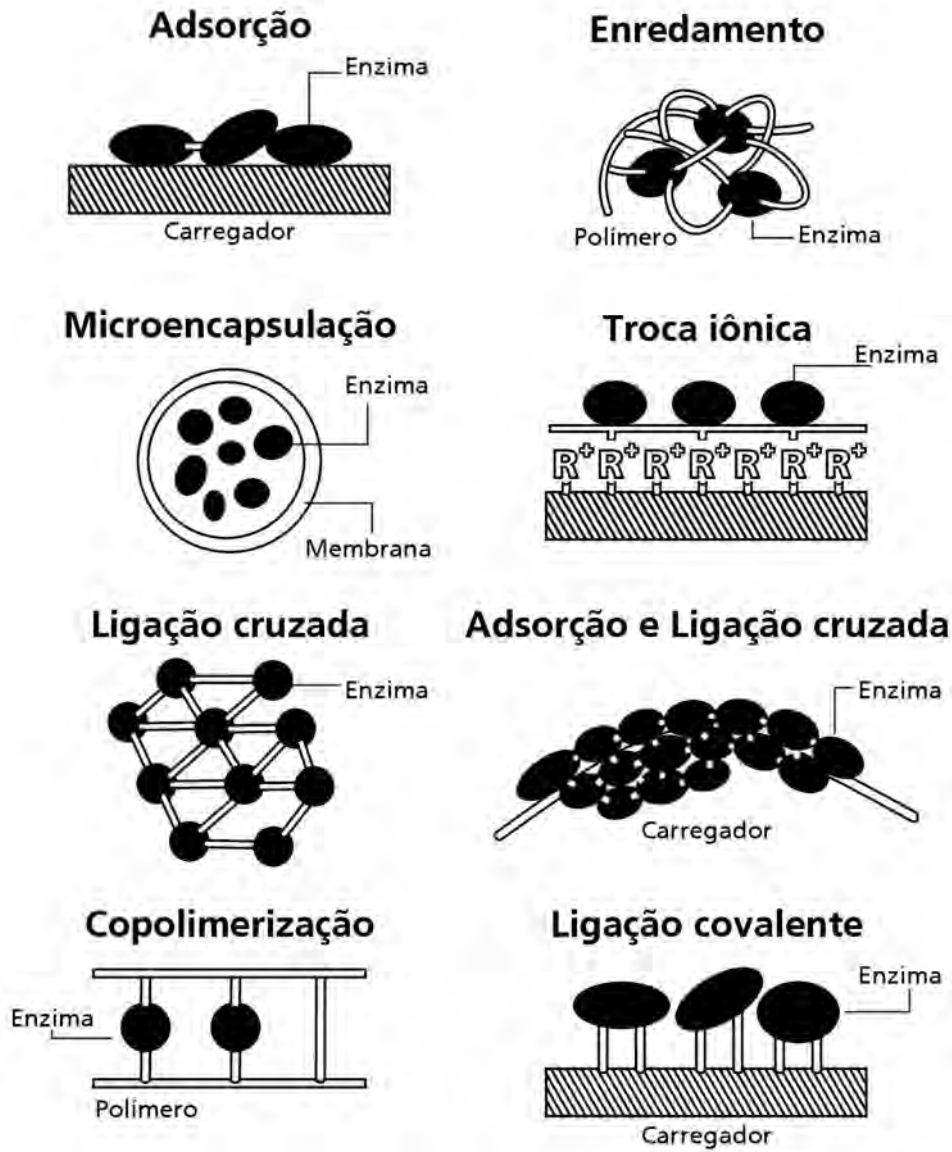


Figura 3.7. Representação esquemática de tipos de imobilização de enzimas. (Weetal, 1975, *apud* Tabatai & Fu, 1992.)

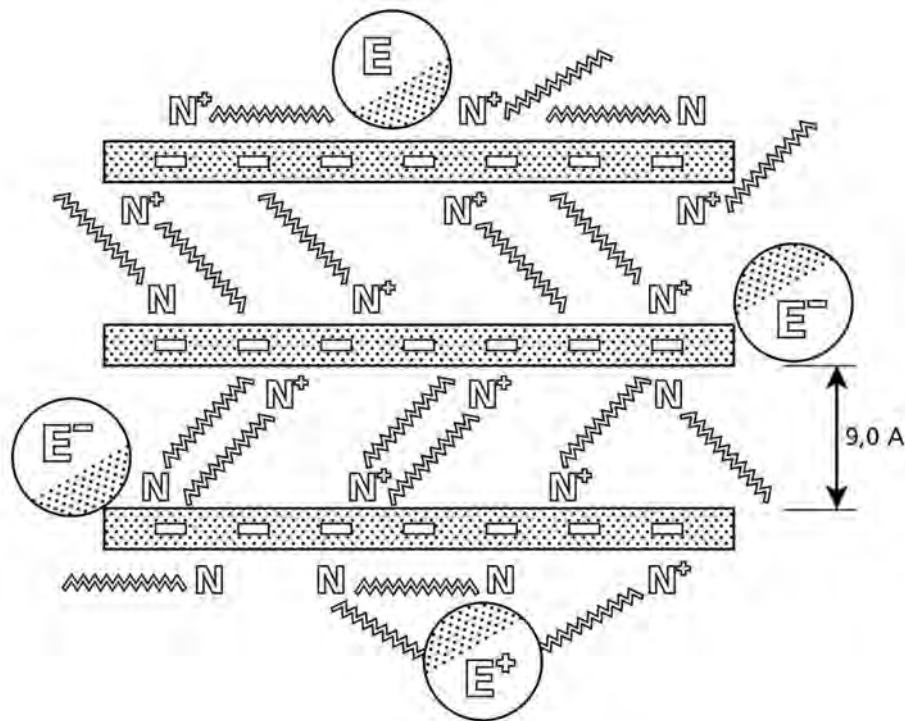


Figura 3.8. Modelo de ligação hidrofóbica de enzimas (E) sobre um complexo argila-matéria orgânica, composto de hexa-decil-trimetil-amônio (HDTMA)-esmectita trocável. A carga líquida das enzimas adsorvidas pode ser positiva (E+), negativa (E-) ou neutra (E), dependendo do ponto isoelétrico do pH. A adsorção resulta de interações não polares entre resíduos hidrofóbicos da enzima (porções escuras dos círculos) e a parte hidrofóbica do HDTMA. (Boyd & Mortland, 1990.)

3.3. Microrganismos e agregação do solo

3.3.1. Aspectos gerais

O arranjo das partículas do solo e o espaço poroso formado entre elas resultam em agregados com forma e tamanho variáveis, que constituem as unidades básicas da sua estrutura. Solos são constituídos de agregados de tamanhos diferentes, consistindo em microagregados (com diâmetro menor que 250 μm), os quais, ligados, formam os macroagregados (com diâmetro maior que 250 μm), de modo que as ligações das partículas nos microagregados são mais fortes que aquelas entre eles (Tisdall, 1994). Os poros podem dividir-se em macroporos e microporos, respectivamente, maiores e menores que 50 μm de diâmetro. Acredita-se que uma boa estrutura para o crescimento das plantas dependa da presença de agregados com diâmetro entre 1 e 10 mm, que permaneçam estáveis quando molhados, contenham grande quantidade de poros com mais de 75 μm de diâmetro, para permanecerem aeróbios,

Tabela 3.4. Mecanismos pelos quais micróbios, enzimas, substratos, produtos e íons inorgânicos tornam-se associados com superfícies do solo (Burns, 1979).

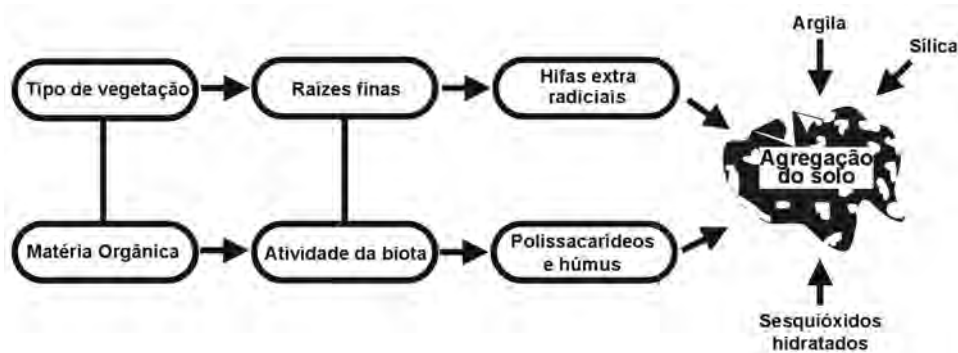
Sorção	troca de cátions troca de ânions protonação formação de hemisais interação íon-dipolo complexos de coordenação ligações de hidrogênio forças de Van der Waals ligação π efeitos de entropia ligação covalente
Microbiano	exopolímeros
Estruturas	flagelos pili prosteca
Outros	incorporação química em húmus incorporação física dentro do húmus reações hidrofóbicas e lipofílicas absorção por células

mas também poros com diâmetro de até 20-30 μm em número suficiente para reter água para o crescimento dos microrganismos e das raízes. Os agregados são unidades complexas onde todos os componentes do solo estabelecem íntimas relações estruturais e funcionais. Solos bem estruturados, com agregados estáveis e poros com tamanhos diversos, são requeridos para boa atividade microbiana, retenção de água e penetração das raízes, resultando em boa qualidade do solo.

O processo de agregação do solo é bastante complexo e envolve a ação de fatores abióticos e bióticos (**Tabela 3.5 e Figura 3.9**). Os fatores abióticos têm sido amplamente estudados e não serão abordados neste livro. Já as informações sobre o envolvimento dos organismos na agregação (estruturação) do solo são bastante fragmentadas, mas suficientes para evidenciar seu papel no processo. Eles exercem uma ação física na adesão entre as partículas, atuando como ligantes físicos e produzindo agentes colantes, agregantes ou cimentantes, como polissacarídeos de alta viscosidade e substâncias húmicas, que se acumulam como resultado da ação dos organismos heterotróficos sobre a matéria orgânica do solo. Vários tipos de polissacarídeos são excretados por microrganismos. Na **tabela 3.6**, encontram-se exemplos para algumas espécies de fungos e bactérias, as quais, inclusive, têm aplicações diversas nas

Tabela 3.5. Principais fatores que influenciam a agregação do solo.

Fatores	Efeitos ou contribuição
Tamanho das partículas	Balanco/densidade de cargas e superfície específica.
Regime hídrico	Ciclos de umedecimento/secagem.
Matéria orgânica do solo	Substrato microbiano e ação cimentante.
Cultivo do solo	Dispersão das partículas.
Microrganismos	Adesão das partículas e produção de agentes cimentantes.
Macrorganismos	Aglomeración das partículas.
Raízes finas	Favorecimento de microrganismos; ação mecânica que promove aproximação das partículas e mucigel (ação cimentante).

**Figura 3.9.** Principais fatores bióticos e abióticos responsáveis pela agregação do solo e suas interrelações. (Jastrow & Miller, 1991.)

indústrias farmacêuticas e de alimentos, entre outras. A quantidade de polissacarídeos excretados pode representar cerca de 30% do carbono consumido, como no caso de algumas espécies de rizóbio e de *Azotobacter* em meio de cultura.

Em solos com cobertura vegetal, os macroagregados são estabilizados pelas raízes e hifas, a estas geralmente associados. As hifas encontram-se em quantidades variando de 1 a 50 m por grama de solo, sendo cobertas por polissacarídeos extracelulares; ocupam os poros formados entre os microagregados, estabilizando, assim, os macroagregados. A ação mecânica do cultivo do solo causa a ruptura desses filamentos e reduz até em 76% os macroagregados após um único cultivo. Apesar de facilmente desestabilizados pelo cultivo, os macroagregados são formados rapidamente pelas raízes e hifas. Por exemplo: houve aumentos de 63 a 147% de agregados estáveis pelo estímulo no crescimento de hifas de *Scutellospora calospora*, em solo cultivado com *Lolium rigidum*, após 35 dias (Degens et al., 1996).

Tabela 3.6. Polissacarídeos extracelulares derivados de microrganismos (Bryers, 1993).

Polissacarídeo	Microrganismo	Aplicação
Xanthan	<i>Xanthomonas campestris</i>	Modificador de viscosidade Agente gelificador Emulsificante Aditivo de alimentos
Dextran	<i>Aerobacter</i> spp <i>Streptococcus bovis</i> <i>Viridans streptococci</i>	Substituto de plasma (expansor de sangue) Tratamento de queimaduras Polieletrólito
Alginatos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Azotobacter vinelandii</i>	Agente espessante em produtos lácteos
Goma Gellan	<i>Pseudomonas elodea</i>	Agente gelificante em meios
Zanflo	<i>Erwinia tahitica</i>	Espessante de tintas p/ pintura
Polytran	<i>Esclerotium glucanicum</i>	Estabilizante de barro para perfu- ração de poços de petróleo
Curdlan	<i>Alcaligenes faecalis</i>	Agente gelificante de alimentos Suporte de enzimas
Pullulan	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Agente floculante
Heteroglycan sem nome	<i>Flavobacterium uliginosum</i>	Terapia anticâncer e antitumores

Isso envolve inúmeros mecanismos com participação direta dos microrganismos. Em agregados com tamanho médio de 200 µm, raízes e hifas se entrelaçam, ligando as unidades estruturais (**Figura 3.10**) garantindo, assim, estabilidade. Naqueles com diâmetros entre 2 e 20 µm, placas de argila aderem à superfície das hifas e ao redor das células bacterianas, através das fibrilas, mucilagens e dos colóides orgânicos (Figura 3.10). Materiais orgânicos remanescentes de tecidos vegetais e células microbianas interagem com íons inorgânicos, formando complexos persistentes no solo.

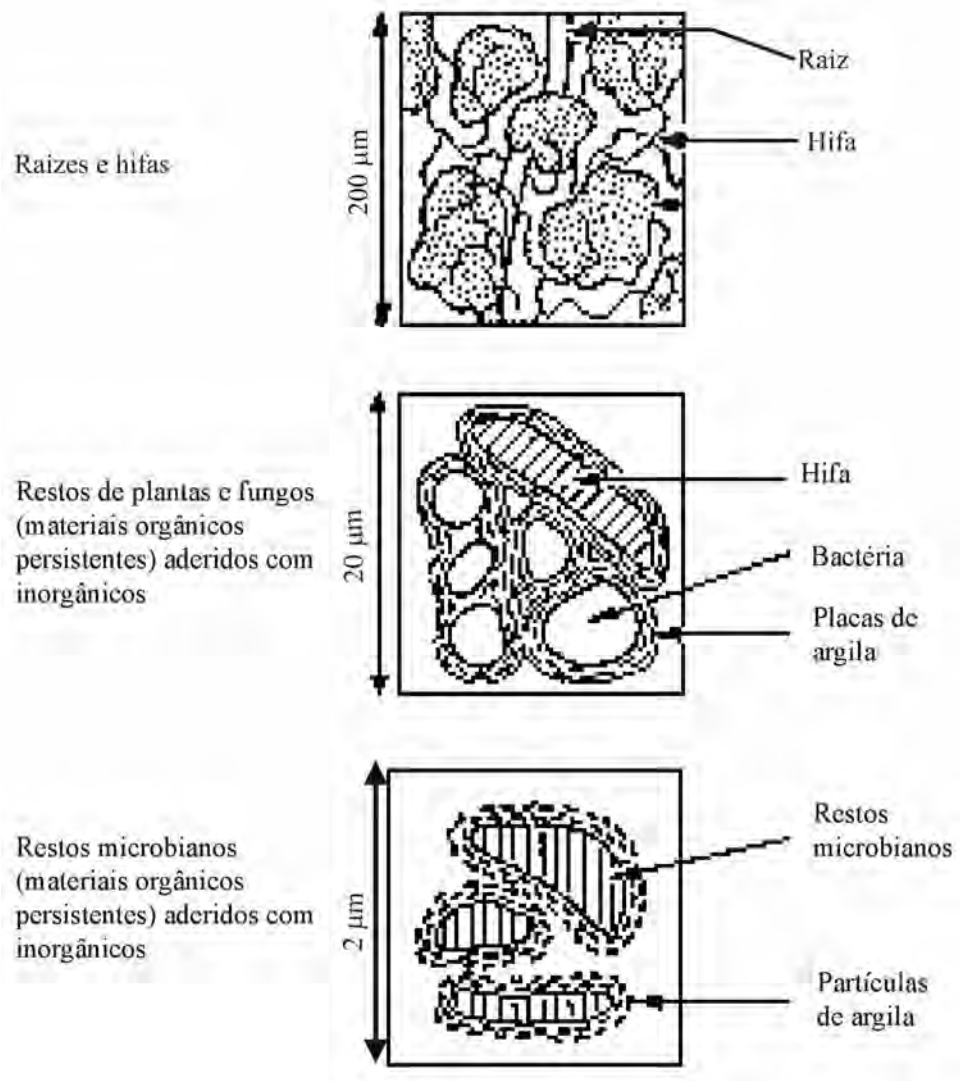


Figura 3.10. Modelo esquemático de microagregados resultantes da ação de materiais orgânicos, vegetais, microbianos e inorgânicos. (Tisdall & Oades, 1982.)

Os ácidos orgânicos presentes na rizosfera, liberados pelas plantas ou resultantes da decomposição, podem contribuir para desestabilizar microagregados por causar quebra de ligações entre a matéria orgânica e a argila pela redução do pH ou quelação catiônica. As placas de argila assim produzidas são mantidas juntas pelos fenômenos de superfície como ligações eletrostáticas e floculação dos colóides. Evidências da contribuição da matéria orgânica do solo e dos microrganismos, especialmente dos filamentosos, são encontradas no fato de que, tanto a formação quanto a estabilidade dos agregados, mostram correlações altas e positivas com o teor de matéria orgânica do solo e o comprimento de hifas e raízes (Boyle et al., 1989; Jastrow & Miller, 1991). Essa relação resulta dos efeitos do maior suprimento de carbono para a microbiota do solo, e não de efeitos diretos da matéria orgânica, como demonstrado no início do século. A adição de material orgânico estéril em solo também estéril não exerce efeito algum na agregação do solo, ficando evidente o papel da microbiota nesse processo. A estabilidade dos agregados é controlada também por agentes cimentantes permanentes, representados pelos aluminossilicatos e óxidos amorfos, polímeros orgânicos adsorvidos na superfície das argilas e agentes orgânicos de ligação. Os últimos têm efeito muito rápido porque são materiais que se decompõem rapidamente. Glicose e polissacarídeos, quando adicionados ao solo, aumentam a estabilidade, mas têm efeito de curta duração, enquanto materiais como tecidos vegetais, que se decompõem mais lentamente, atuam também vagarosamente, mas com efeitos mais persistentes (**Tabela 3.7**).

Enquanto a contribuição dos fatores abióticos na agregação do solo aumenta com a diminuição da granulometria das partículas do solo, a dos bióticos diminui. Em solos argilosos, portanto, a contribuição relativa dos microrganismos é geralmente pequena. Todos os grupos de microrganismos atuam nesse processo, porém de modo muito diferenciado. Em geral, a ação dos microrganismos decresce na seguinte ordem: fungos > actinomicetos > bactérias produtoras de polissacarídeos extracelulares > leveduras > maioria das bactérias.

O efeito das hifas fúngicas, em especial daquelas de fungos associados às raízes (micorrizas) (também abordado no item 10.3.10) na agregação do solo, também tem sido destacado e recebido maior atenção, recentemente, diante da importância dessa simbiose na agricultura e na restauração ambiental. As micorrizas contribuem para maior produtividade, sustentabilidade agrícola e para a conservação ambiental (Siqueira et al., 1994), através de inúmeros efeitos, os quais incluem melhoria na agregação, podendo ainda atenuar o efeito dispersivo da adsorção de fosfato que afeta negativamente a agregação do solo. A importância das micorrizas na agregação relaciona-se também ao fato de que 83%

Tabela 3.7. Influência da adição de resíduos orgânicos (0,5% por peso) na agregação do solo (Martin & Focht, 1977).

Tempo—(dias)→ Resíduo adicionado	0	5	10	50	200
	Aumento na agregação, % do controle				
Sacarose	75	70	52	47	36
Alfafa	64	69	65	58	55
Esterco de curral	34	46	56	54	54
Turfa	0	0	0	4	12

de todas as hifas fúngicas encontradas em solos com plantas pertencem aos fungos micorrízicos (Kabir et al., 1997). Essas hifas produzem polissacarídeos extracelulares através dos quais se ligam aos microagregados e produzem também glomalina, uma glicoproteína abordada no capítulo 10. A presença do fungo estimula também o crescimento das raízes e da planta como um todo, e a rizodeposição ainda estimula outros componentes da microbiota rizosférica. Em estudo sobre a agregação de sedimentos por diversos fungos, relatou-se que, enquanto 10 espécies de isolados do solo tiveram pouco efeito na agregação (controle = 2,1% e média de vários fungos < 10%), a inoculação de *Stachybotrys atra* aumentou a agregação das partículas de 2% para 60% em apenas duas semanas, a 24 °C e 30% de umidade (McCalla & Haskins, 1961).

Os fungos filamentosos atuam sobre a agregação do solo através de três efeitos principais: a) orientação de partículas de argila ao redor das células; b) secreções de polissacarídeos que induzem ligações com partículas de argilas e c) atuando no empacotamento de hifas que conduzem a uma nova microestrutura de partículas nas adjacências da célula (**Figura 3.11**). Como resultado desses mecanismos, os agregados são geralmente mais estáveis na seguinte ordem: micorrizosfera do solo > rizosfera do solo > hifosfera do solo > solo livre de raízes e fungos. As raízes e os componentes fúngicos aumentam a estabilidade dos agregados, mas tais componentes geralmente não apresentam relação direta com outros parâmetros biológicos, como número total de bactérias, actinomicetos, bactérias anaeróbias e solubilizadores de P.

Os efeitos das bactérias são também facilmente demonstrados. A inoculação do solo com *Bacillus polymyxa*, também fixadora de N₂, aumentou a proporção de agregados de tamanho entre 0,5 e 4,0 mm (**Figura 3.12**). As bactérias produzem polissacarídeos (gomas), bastante eficientes em promover a agregação do solo, conforme ilustrado na **figura 3.13**, que mostra os polissacarídeos bacterianos tendo efeito comparável ao condicionador (agente estruturador) comercial Krilium.

3.3.2. Cultivo do solo e agregação

Como apresentado nos itens anteriores, as raízes e hifas são importantes agentes agregantes com ação física e biológica. Essa é a razão pela qual os solos sob gramíneas, que possuem sistema radicular abundante e elevada rizodeposição, têm boa agregação e são geralmente bem estruturados. No entanto, esses efeitos podem ser prejudicados pelas práticas culturais. O rápido declínio verificado na agregação dos solos virgens, quando cultivados, deve-se à redução da matéria orgânica e à ruptura das hifas e raízes que atuam ativamente na estabilidade dos agregados. Isso resulta do impacto dessa prática sobre os organismos filamentosos e também apresenta forte relação com a produção e decomposição dos restos culturais. É amplamente conhecido que o cultivo intensivo tradicional tem um efeito negativo sobre o estado de agregação do solo. Isso está relacionado, pelo menos em parte, com a redução do teor de carbono no solo, sendo mais pronunciado quando os restos culturais são queimados ou removidos, seja mecanicamente, seja pela erosão do solo. A manutenção dos restos culturais no solo, com ou sem incorporação e suas práticas de conservação, favorecem a atividade microbiana e reduzem impactos negativos que possam surgir pelo cultivo intensivo sobre a qualidade dos solos agrícolas.

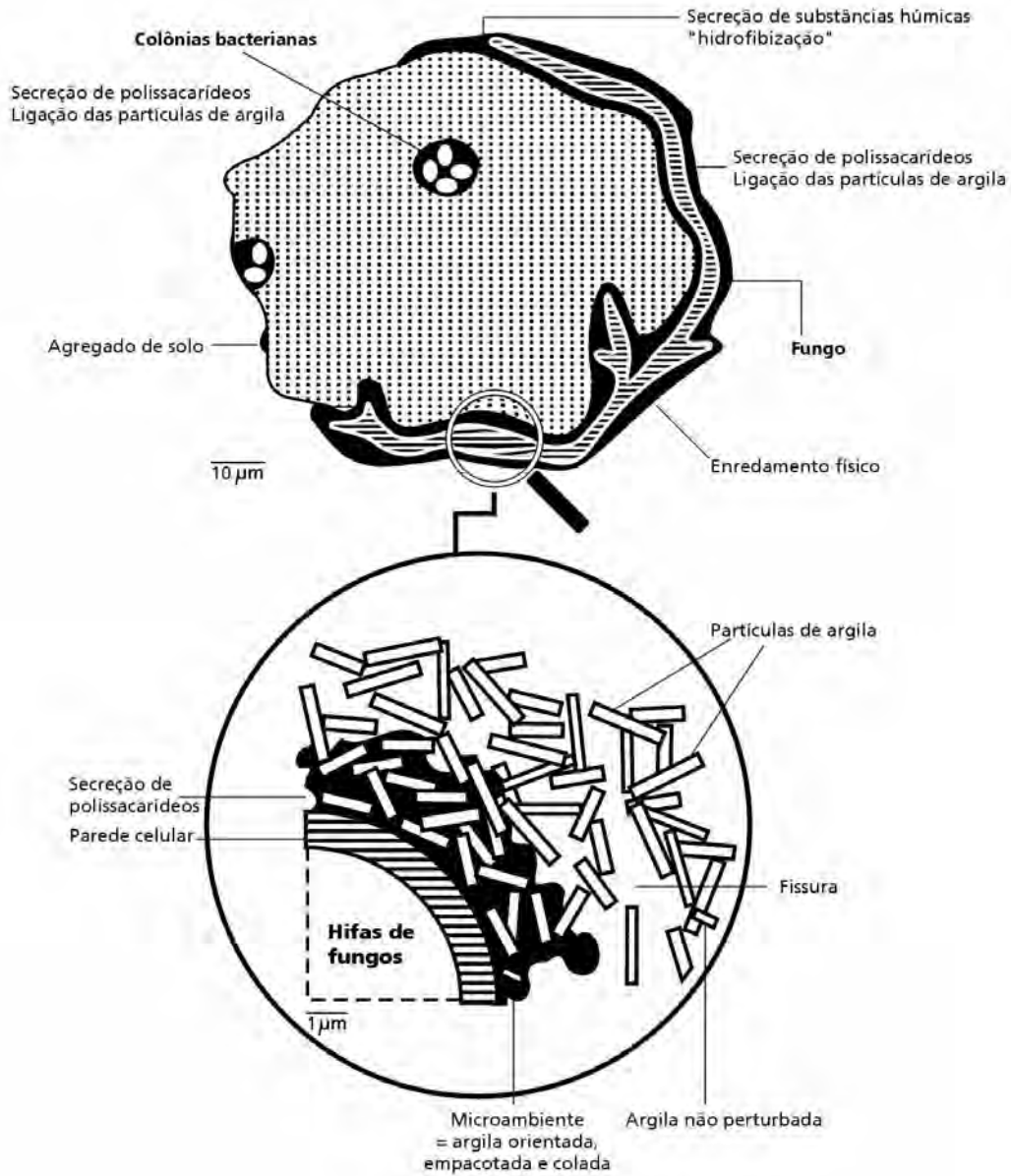


Figura 3.11. Polissacarídeos e hifas de fungos como agentes agregantes de partículas do solo. (Robert & Chenu, 1992.)

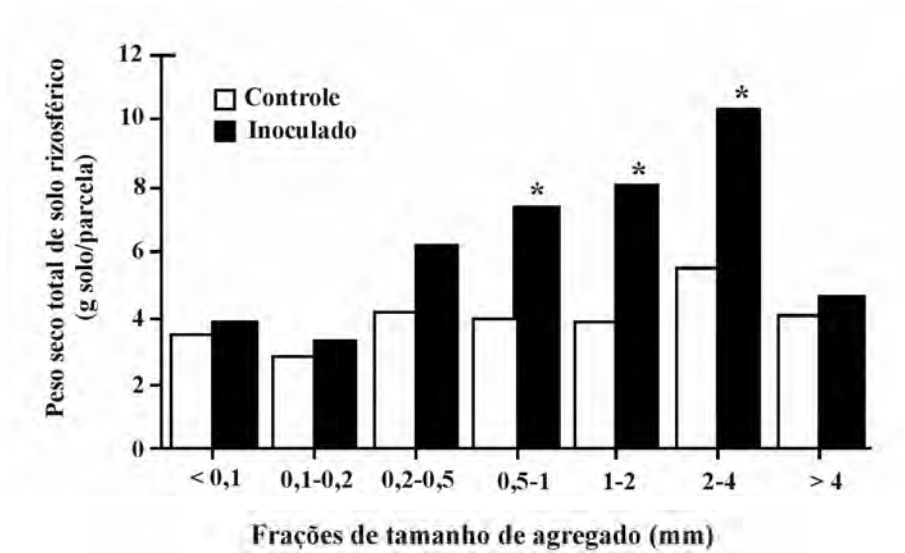


Figura 3.12. Efeito da inoculação com *Bacillus polymyxa* CF43 no peso total de solo rizosférico, ocorrendo em sete frações de tamanho de agregados (*efeito significativo da inoculação $p < 0,05\%$). (Gouzou et al., 1993.)

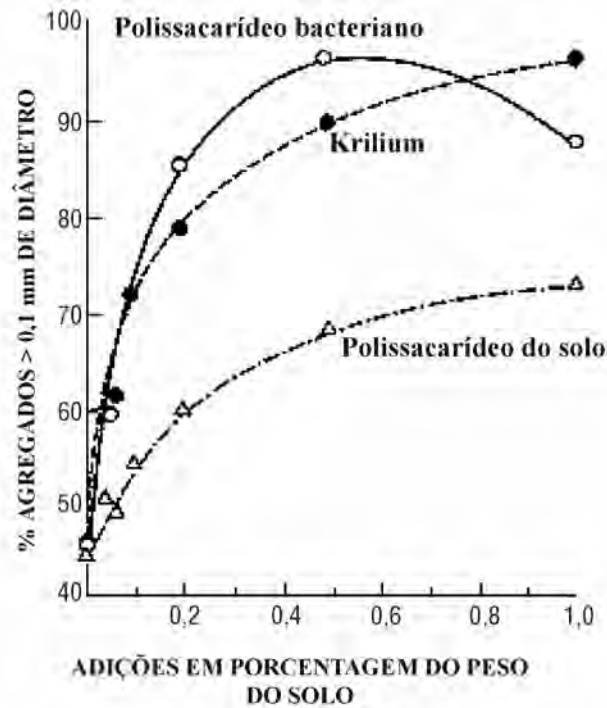


Figura 3.13. Efeito de polissacarídeo bacteriano, Krillium e polissacarídeo extraído do solo em quantidades equivalentes a porcentagens do peso do solo na porcentagem de agregação de um solo franco-siltoso (Rennie et al., 1954). Krillium é um produto comercial estruturador do solo.

A relação entre a matéria orgânica do solo, os microrganismos e a sua estruturação é bastante evidente, porém a distinção entre causa e efeito não é totalmente clara. Enquanto a matéria orgânica e os microrganismos estabilizam a estrutura, uma boa estrutura protege fisicamente a matéria orgânica e os microrganismos do solo, formando um circuito complexo e intimamente ligado entre agregação, microbiota e matéria orgânica (**Figura 3.14**). Qualquer interferência em um desses componentes tem conseqüências para a agregação. Por exemplo, aumento na matéria orgânica do solo estimula os microrganismos, favorecendo a agregação. Solo bem agregado é melhor *habitat* microbiano e também protege fisicamente a matéria orgânica do solo da decomposição. Já, a ação mecânica do cultivo, além de romper os macroagregados com impacto sobre os microrganismos filamentosos, acelera a decomposição da matéria orgânica do solo, interferindo na densidade e atividade microbiana e na dinâmica da agregação (formação/degradação). O manejo inadequado altera processos do solo tendo reflexos na sua qualidade e podendo culminar com sua degradação. Modificações nas práticas de cultivo, especialmente naquelas relacionadas ao manejo dos restos culturais e rotação de culturas envolvendo gramíneas com abundante sistema radicular, podem, por si só, representar melhorias consideráveis na agregação e estabilidade dos agregados dos solos agrícolas. Isso representa melhoria nas condições de crescimento, na produção das plantas e na redução na erosão dos solos cultivados, diminuindo o impacto da agricultura sobre o meio ambiente.

As perspectivas de promover a agregação de solos com estruturação deteriorada (solos agrícolas, erodidos ou de mineração) pela manipulação da comunidade microbiana do solo via manejo dos restos culturais, revegetação e inoculação, são promissoras, e poderão ser mais vantajosas se o inóculo for multifuncional, isto é, tiver objetivos adicionais, como, por exemplo, promover o biocontrole de patógenos ou melhorar a nutrição da planta. Para se obter sucesso com o manejo biológico da agregação, deve-se procurar microrganismos com características específicas em relação à agregação. Algumas delas acham-se resumidas e comentadas na **tabela 3.8**.



Figura 3.14. Inter-relação entre microrganismos, matéria orgânica e agregação e interferência do manejo do solo. Para entendimento das relações, observar o sentido das setas: tracejadas – sentido horário, contínua – sentido anti-horário.

Tabela 3.8. Características dos microrganismos em relação à agregação do solo.

Característica do microrganismo	Situação ideal ou pretendida
Produção de micélio	Maior produção de hifas ativas no solo.
Produção e qualidade de mucilagem	Elevada produção de mucilagem persistente e com grande capacidade de aderência.
Aderência às argilas	Estruturas químicas e microbianas com elevada hidrofobicidade, atração eletrostática e formação de pontes de cátions polivalentes.
Crescimento microbiano	Rápido crescimento, invasão do solo e colonização das partículas de solo.
Persistência e atividade no solo	Elevada persistência e capacidade metabólica.
Interação com outros microrganismos e plantas	Estimular plantas a produzir mais raízes e favorecer a população rizosférica; estimular produtores de agentes cimentantes persistentes no solo ou nos agregados.
Alteração nas raízes (exsudação)	Estimular ramificação das raízes, aumentando a produção de mucigel e o efeito agregante destas direta e indiretamente.
Produção de polifenóis	Maior produção para reduzir a degradação dos polissacarídeos de ação agregante permanente.

3.4. Fatores ambientais (físico-químicos) que afetam os microrganismos

3.4.1. Aspectos gerais

A presença de um microrganismo em determinado solo é função das condições ambientais dominantes e dos limites da sua bagagem genética. O sucesso de um organismo em qualquer *habitat* é função da extensão e rapidez de suas respostas fisiológicas às condições ambientais predominantes. Como já visto no capítulo 2, algumas espécies de microrganismos podem sobreviver em condições extremas de salinidade, temperatura, pressão e pH. Além disso, os microrganismos, de modo geral, são bastante versáteis em adaptar-se a mudanças ambientais. Limitações físicas (e.g., água, aeração, porosidade, adesão) e químicas (e.g., disponibilidade de nutrientes e toxicidade de elementos como metais pesados) aos microrganismos podem ocorrer nos solos, mas muitas espécies são capazes de se adaptar a essas condições. Portanto, microrganismos podem ser encontrados em quase todos os ecossistemas terrestres, incluindo solos.

O tamanho e a forma das células refletem as condições ambientais. Em condições de nutrição reduzida a razão superfície/volume aumenta, as células ficam mais alongadas formando, às vezes, filamentos de modo a aumentar a superfície de contato com o solo e ter maior acessibilidade aos nutrientes. Já em condições de seca, ocorre o inverso, a razão superfície/volume diminui e as células se tornam esféricas para diminuir perdas de água. Tais células arredondadas são denominadas "cistos" em

alguns gêneros (e.g., *Azotobacter*, *Methylocistis*) e mixósporos em myxobactérias. Populações de organismos dormentes em solos oligotróficos (com baixos teores de nutrientes) têm predominância de células cocóides ou bastões cocóides cobertos com materiais semelhantes a cápsulas. Nesses ambientes, algumas espécies (e.g., *Azospirillum* spp.) podem acumular PHB (Poly-β-hidroxibutirato), material armazenado dentro da célula como forma de resistir a períodos de estresse. *In vitro*, a forma das células pode ser alterada por diversos fatores químicos e físicos. Células gram-positivas são mais abundantes no solo não rizosférico, provavelmente devido à maior espessura de sua parede celular (Ver capítulo 2) conferindo maior resistência a estresses. Espécies com flagelos também têm vantagem adaptativa, pois podem fugir de predadores. Várias espécies são capazes de formar estruturas de resistência a estresses ambientais, como cistos e diversos tipos de esporos (e.g. endosporos e exosporos) (Figura 3.15 e Tabela 3.9). A tabela 3.10 mostra que essas estruturas podem sobreviver por longos períodos de tempo no solo.

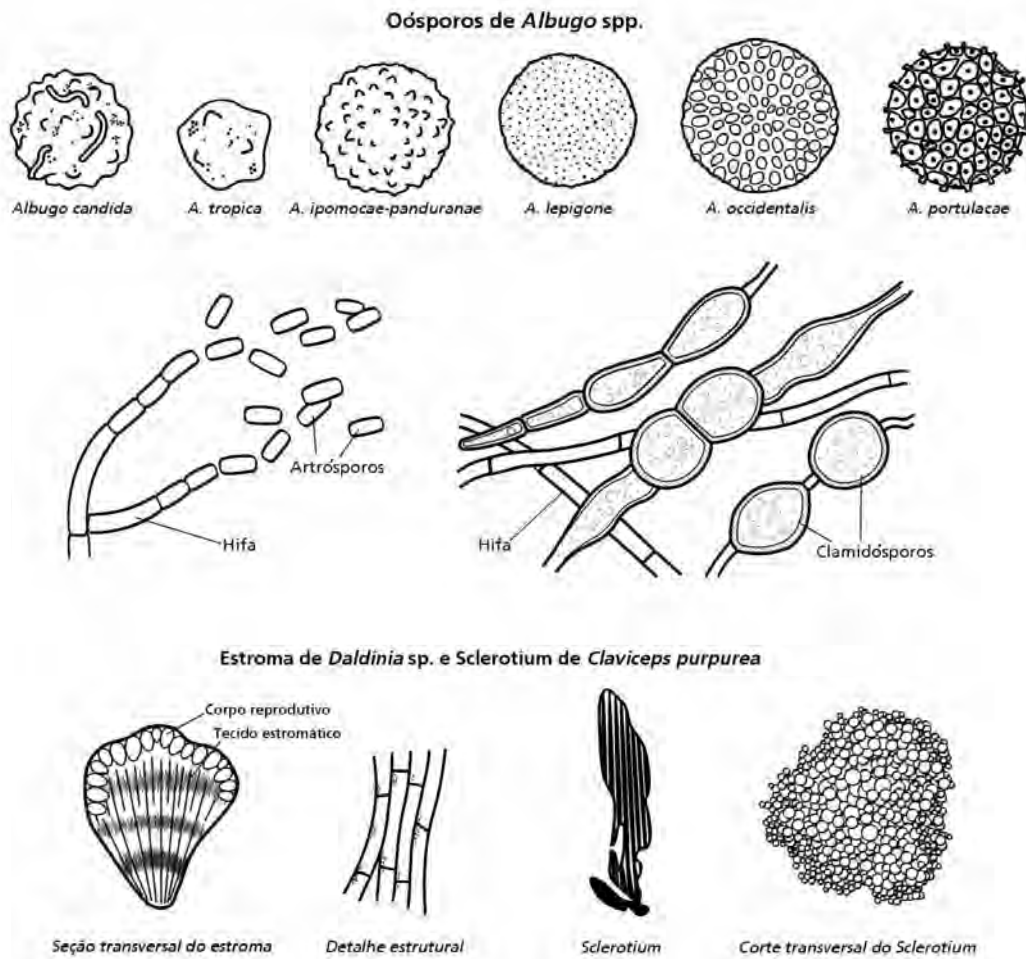


Figura 3.15. Tipos de esporos e outras estruturas de resistência a condições adversas.

Tabela 3.9. Estruturas de sobrevivência e sua ocorrência em espécies de fungos fitopatogênicos.

Estrutura	Espécies
Oósporos	<i>Pythium spp.</i> , <i>Aphanomyces euteiches</i>
Sclerotium	<i>Phymatotrichum omnivorum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Clamidósporos	<i>Phytophthora spp.</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Thielaviopsis basicola</i>
Microesclerotium	<i>Cylindrocladium scoparium</i> , <i>Verticillium dahliae</i> , <i>V. albo-atrum</i>

Tabela 3.10. Persistência de estruturas de fungos no solo (Alexander, 1977).

Estrutura	Fungo	Persistência (Anos)
Clamidósporo	<i>Tilletia</i>	> 5
Oósporo	<i>Aphanomyces</i>	> 10
Sclerotium	<i>Phymatotrichum</i>	> 12
Microesclerotium	<i>Verticillium</i>	14

3.4.2. Substratos e fontes de energia

Diversos tipos de substratos orgânicos estão presentes no solo. Sua variedade pode ser tão grande quanto a das espécies microbianas. A matéria orgânica nos solos (MOS) pode variar de menos que 1 até mais de 90%, sendo formada por resíduos de plantas, animais e microrganismos, produtos desses resíduos transformados por micróbios, pelo homem ou abioticamente, além de materiais sintetizados pelo homem, denominados xenobióticos e abordados com detalhes no capítulo 6. A distribuição da MOS não é uniforme e varia de acordo com a geometria e propriedades físicas, químicas e mineralógicas dos micro-*habitats*. Os substratos e sua taxa de degradação pelos microrganismos dependerão: do tipo de substrato, da relação espacial (acessíveis ou não), entre esses e células e/ou enzimas e das condições físico-químicas do micro-*habitat*. Nem toda substância orgânica é passível de degradação por microrganismos. Substâncias não degradáveis ou que demoram a ser degradadas são denominadas recalcitrantes (ver capítulo 5), as quais tanto podem ser produtos naturais (e.g., húmus, porfirinas e alguns D-aminoácidos) como substâncias feitas pelo homem (xenobióticos, e.g., plásticos, detergentes e alguns pesticidas). A idéia de que o solo é um poderoso incinerador que degrada todas as substâncias orgânicas em virtude da infalibilidade microbiana deve ser revista para evitar a poluição ambiental crescente, pois, mesmo as mais adaptadas comunidades microbianas são incapazes de degradar algumas moléculas recalcitrantes ou as degradam lentamente, enquanto alguns microrganismos são capazes de degradar outras, como os exemplificados na **tabela 3.11**. Como já mencionado, o solo não rizosférico é, de modo geral, um deserto nutricional, mesmo sob cobertura vegetal; por isso, incorporações de matéria orgânica e nutrientes favorecem o aumento dos

110 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

microrganismos heterotróficos como as apresentadas na **figura 3.16**. À medida que o substrato é consumido ocorre declínio da população.

A maior atividade biológica do solo situa-se, de modo geral, na camada de 0 a 20 cm de profundidade, pois aí ocorre maior acumulação da matéria orgânica do solo pela deposição de material vegetal da parte aérea (serrapilheira), além do efeito das raízes (**Tabelas 3.12 e 3.13**). Assim, a matéria orgânica e o efeito rizosférico são função da cobertura vegetal do solo que, têm grande influência nos organismos. Solos sem cobertura vegetal tendem a ter menos matéria orgânica, pois essa não é repostada pelo material vegetal. Esses solos, portanto, têm uma comunidade biológica menor e menos diversificada. A **tabela 3.14** mostra que, em termos quantitativos, houve uma redução acentuada de vários grupos de microrganismos com a ausência de cobertura e com o aumento da profundidade em solos cobertos com vegetação.

Tabela 3.11. Exemplos de microrganismos envolvidos na decomposição de compostos recalcitrantes.

Compostos	Microrganismos
Cutina	<i>Penicilium spinulosum</i> <i>Bacillus subtilis</i>
Lignina	<i>Pseudomonas</i> spp. Basidiomicetos
Taninos	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.
Ácido Húmico	<i>Penicillium luteum</i> <i>P. frequentans</i>
Ácido Fúlvico	<i>Poria subacida</i>
Simazina	<i>Streptomyces</i> spp. <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Fusarium</i> spp.
Fenoxi-Herbicidas	<i>Flavobacterium</i> sp.

3.4.3. Fatores de crescimento

Fatores de crescimento (FC) são substâncias orgânicas essenciais ou estimulantes para o crescimento de organismos e que são requeridas em pequenas quantidades (1 a 100 mg. L⁻¹). Alguns exemplos são as vitaminas, purinas, pirimidinas e aminoácidos que podem ser produzidos por excreções de raízes, por resíduos orgânicos ou pelos próprios microrganismos. Bactérias que requerem FC são mais abundantes na rizosfera do que no solo não rizosférico, uma vez que os FC são mais abundantes nesse *habitat*, tornando as populações desse ambiente adaptadas a tais condições. Organismos incapazes de sintetizar FC necessárias ao seu metabolismo são denominados auxotróficos. Normalmente esses fatores não são limitantes no solo em vista de relações benéficas (abordadas neste mesmo capítulo) entre os microrganismos, possibilitando que auxotróficos utilizem FC excretados por outros organismos que ocorrem em percentagens significativas no solo (**Tabela 3.15**).

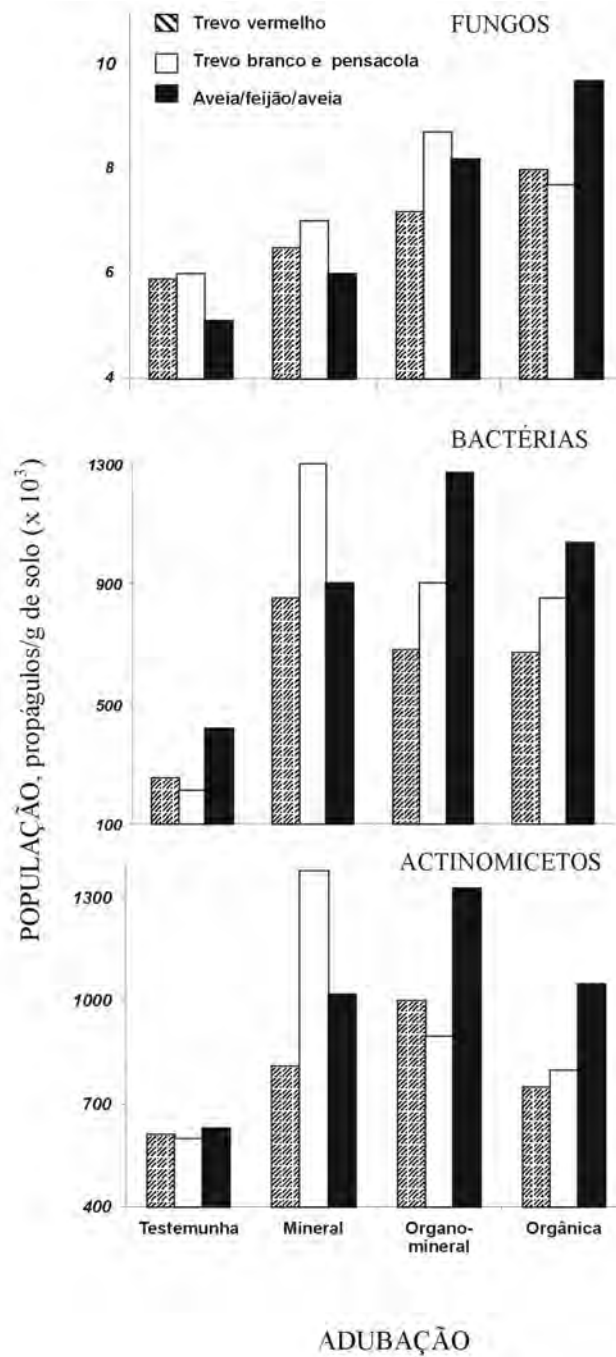


Figura 3.16. População de bactérias, fungos e actinomicetos em solo submetido a diferentes sucessões de culturas e tipos de adubação. Média de 8 determinações. (Nuernberg et al, 1984.) Solo coletado na camada de 0 a 15 cm de profundidade.

112 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

Tabela 3.12. Distribuição de microrganismos em vários horizontes do perfil (Starc, 1942 *apud* Alexander, 1977).

Profundidade (cm)	Organismos / g de solo x 10 ³				
	Bactérias Aeróbicas	Bactérias Anaeróbicas	Actinomicetos	Fungos	Algas*
3 – 8	7800	1950	2080	119	25
20 – 25	1800	379	245	50	5
35 – 40	472	98	49	14	0,5
65 – 75	10	01	05	06	0,1
135 – 145	01	0,4	-	03	-

*Inclui cianobactérias

Tabela 3.13. Dióxido de carbono resultante da decomposição da matéria orgânica, durante 576 horas, em profundidade, de um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico sob três coberturas vegetais, na região de Viçosa (MG). Médias de 4 repetições¹ (Extraído de Fialho et al., 1991).

Profundidade (cm)	Cobertura vegetal		
	Mata natural	Pastagem	Eucalipto
	-----meq/100g TFSA-----		
0-2	6,61 aA	6,33 aA	6,00 aA
2-4	5,89 aA	4,32 bB	3,55 bB
4-6	4,49 bA	3,69 bcAB	2,77 bcB
6-8	3,44 bcA	3,06 cdA	2,26 cdA
8-10	3,20 cdA	2,61 cdeA	2,30 cdeA
10-15	2,77 cdeA	1,79 efA	1,62 defA
15-20	1,85 efA	1,78 efA	1,37 defA
20-50	1,08 fA	0,95 fA	0,88 fA

¹Médias com pelo menos uma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 3.14. Populações microbianas em solo com vários tipos de cobertura vegetal¹ e sem cobertura vegetal (Adaptado de Cattelan & Vidor, 1990 a e b).

Tipo de População microbiana	Cobertura do solo/Profundidade		
	Siratro		sem cobertura
	0-5 cm	5-15 cm	0-5 cm
	-----n° X 10 ⁴ /g solo-----		
Bactérias ²	880-1534	450-829	630
Actinomicetos ³	405-613	320-401	405
Fungos ⁴	12,5-19,0	5,3-8,1	12,9
Bactérias esporulantes ⁵	705-1406	516-741	599
Celulolíticos ⁶	0,64-1,29	0,3-1,13	2,2
Solubilizadores ⁷	15,7-26,9	22,1-29,3	19,5
	-----mg/100g solo-----		
Biomassa(C) microbiana ⁸	32-62	17,7-36,9	21,7

¹Guandu e milho, campo nativo, siratro, pangola, aveia, milho, aveia e milho e caupi
 Meios empregados: ²Thornton ³Martin ⁴Caseinato dextrose ágar ⁵Thornton ⁶Celulose ágar ⁷Glicose-extrato de solo ⁸Método Fumigação-incubação

Tabela 3.15. Porcentagem de incidência de bactérias no solo que excretam e requerem vitaminas (Rouatt, 1967 *apud* Alexander, 1977).

Vitaminas	Porcentagem de Bactérias	
	Excretando Vitaminas	Requerendo Vitaminas
Tiamina	28,0	44,9
Biotina	14,0	18,7
Ácido Pantotínico	32,7	3,7
Ácido Fólico	26,2	1,8
Ácido Nicotínico	30,8	5,6
Riboflavina	27,1	1,8
Piridoxina	18,7	1,8
Vitamina B12	14,0	19,2
Uma ou mais vitaminas	37,4	54,2

3.4.4. Nutrientes minerais

O solo é o maior reservatório dos nutrientes essenciais aos organismos, importantes componentes do protoplasma de todos os organismos vivos. Estima-se que cada célula procariótica possua cerca de 25 milhões de macromoléculas de 2.500 tipos diferentes que podem ser agrupadas em proteínas, polissacarídeos, lipídeos, DNA e RNA. Além das macromoléculas encontram-se nas células: monômeros (aminoácidos, açúcares e nucleotídeos e seus precursores) e íons inorgânicos. Carbono, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio são os constituintes principais das moléculas orgânicas. Outros como P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, Co, Na, Cr, Ni, Se, W e V constituem moléculas e/ou são importantes nas diversas reações metabólicas. No caso de organismos edáficos, são importantes ainda como fonte de energia para quimiolitotróficos e, como doadores de elétrons, para esses e para os fotolitotróficos. A quantidade e a forma requeridas adequadas dependem da espécie microbiana. Por exemplo, com relação ao nitrogênio, a quantidade total de N no solo (gases e combinada) é significativa, porém formas prontamente disponíveis para os microrganismos são raramente suficientes. O N inorgânico é utilizável pela maioria das espécies; o orgânico, por algumas e, o gasoso, apenas pelos diazotróficos. Espécies que têm acesso a formas abundantes, mas não disponíveis para a maioria das espécies, têm vantagem ecológica. Como exemplos, além dos diazotróficos, têm-se os solubilizadores de fosfato e espécies com sistemas proteolíticos ou desaminantes.

Processos também podem ficar limitados pela disponibilidade de nutrientes inorgânicos. A mineralização, por exemplo, é dependente das relações C:N, C:P e C:S (Ver capítulo 7). Processos fisiológicos e bioquímicos afetados pela deficiência de nutrientes são os seguintes:

- a) síntese de enzimas e outros biopolímeros;
- b) estabilização da parede celular;
- c) estrutura terciária do DNA e do RNA;
- d) divisão celular;
- e) ligação de fagos a célula;
- f) mobilidade;
- g) interações simbióticas (ver capítulos 9 e 10).

Assim como ocorre com a adição de matéria orgânica, há uma resposta pronunciada da população de microrganismos à aplicação de nutrientes minerais. A figura 3.16 ilustra uma resposta positiva de populações de fungos, bactérias e actinomicetos à adubação mineral em relação à testemunha que não recebeu tais nutrientes, que pode ter sido direta ou indireta pelo maior aporte de matéria orgânica com baixa relação C:N.

3.4.5. Composição e força iônica da solução do solo

Além do pH e do potencial redox, outros parâmetros que definem a qualidade da solução do solo são a composição e a força iônica. A solução do solo é um eletrólito fraco composto por cátions e ânions inorgânicos e orgânicos de diferentes valências.

A força iônica é calculada pela fórmula:

$$M = 1/2 \sum CZ^2$$

em que:

C = concentração de cada espécie iônica (K⁺, Ca⁺⁺, Na⁺, Mg⁺⁺, Fe⁺⁺, H⁺, Al⁺⁺⁺, Fe⁺⁺⁺, H₂PO₄⁻, SO₄⁻ etc.)

Z = valência do íon

Esses parâmetros influenciam a solubilidade de sais, constantes de ionização de eletrólitos fracos, atividade das enzimas do solo, potencial eletrocinético, adsorção e floculação de: células, partículas virais, argilas e materiais húmicos, integridade das células ao nível morfológico (membranas) e ao nível molecular (proteínas, ribossomos, etc.), diferenças morfológicas, produção de toxinas, divisão celular, germinação de esporos e absorção de íons pelas células (por osmose, difusão, transporte ativo, equilíbrio de Donnan).

3.4.6. pH

A maioria dos solos tem pH entre 4,0 e 8,5. Os horizontes superficiais de solos em climas mais úmidos são geralmente ácidos devido à lixiviação de bases e decomposição da serrapilheira. A fertilização pesada, a chuva ácida e até a fixação biológica de nitrogênio também podem contribuir para abaixar o pH do solo. Já, os solos de regiões mais secas ou semi-áridas são geralmente alcalinos. No entanto, estes valores não refletem as condições dos diversos microambientes dos solos. Devido à dupla camada difusa, ao metabolismo microbiano e a outras forças dinâmicas, o pH no solo pode variar de duas ou mais unidades em distâncias menores que o diâmetro de uma célula! Como são carregadas negativamente, as argilas, de modo geral, têm camadas de íons carregados positivamente (cátions) atraídos a elas. O mesmo ocorre para os colóides orgânicos. O aumento da concentração de cátions (incluindo o H⁺) da dupla camada, torna o pH das superfícies carregadas muito menor que o da solução do solo (**Figura 3.17**). O conceito de diferenças atribuídas à teoria da dupla camada difusa explica por que valores de pH ótimo e mínimo para a nitrificação, geralmente considerada como sendo mediada por bactérias quimiolitotróficas (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), uma das reações mais sensíveis ao pH (**Figura 3.18**), sejam tão diferentes quando medidos no solo e no laboratório. Em solos de floresta, a nitrificação ocorre em valores de pH menores que 4,0; já em soluções de cultivo não ocorre em pH menor que 6,0. Além da ocorrência de microssítios com pH mais elevado, outra explicação para esse fenômeno é que a nitrificação em solos ácidos seria realizada por nitrificadores heterotróficos, mais tolerantes à acidez que os autotróficos.

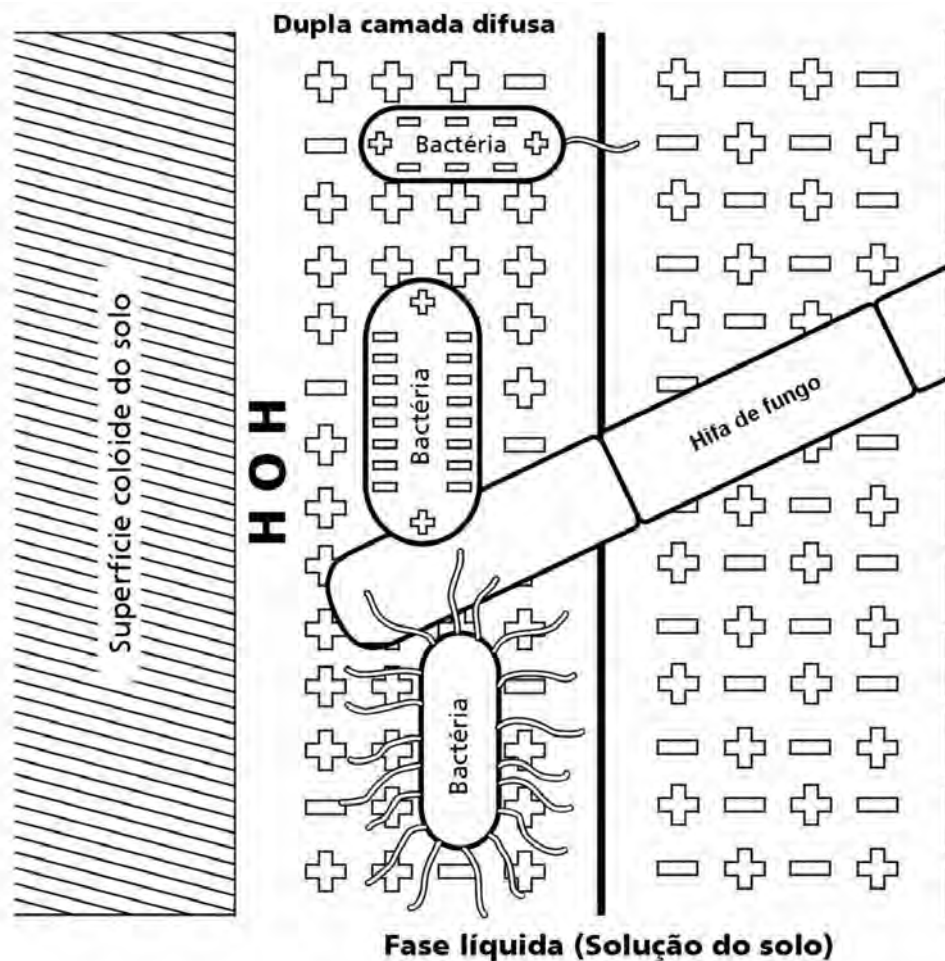


Figura 3.17. Distribuição de cargas na dupla camada difusa do solo.

A flutuação do pH do solo causada pela atividade metabólica dos microrganismos é dependente do tipo de substrato metabolizado. Adições de carboidratos diminuem o pH inicialmente pela produção de metabólitos ácidos e de CO_2 .

Outros fatores que afetam os organismos e, indiretamente influenciados pelo pH, são a disponibilidade e toxicidade de nutrientes minerais. Fe, Mn e Zn são menos disponíveis em valores de pH acima de 7,0. Fe, Al e Mn atingem níveis tóxicos em valores de pH menores que 5,0 e estão menos disponíveis em valores altos ou baixos. Processos como a germinação e o crescimento do tubo germinativo de esporos de fungos micorrízicos, por exemplo, são afetados negativamente pela elevação da concentração de Al (**Figura 3.19**).

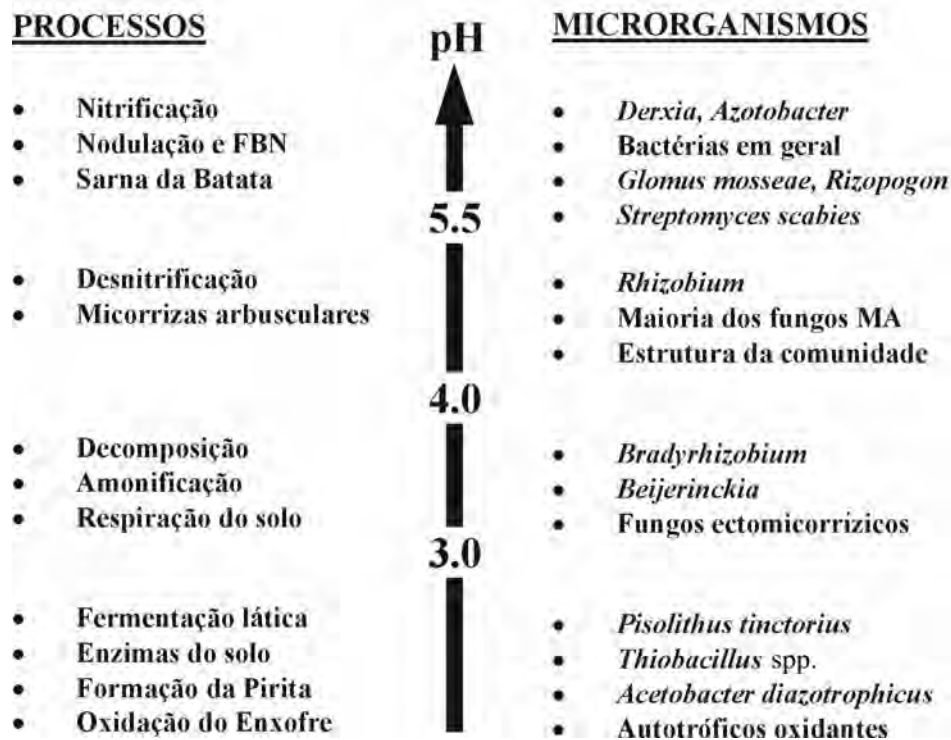


Figura 3.18. Valores de pH críticos para microrganismos e processos do solo. (Siqueira & Moreira, 1997.)

Os microrganismos podem ser classificados em relação ao pH como se segue:

- insensitivos ou indiferentes – aqueles que toleram uma ampla faixa de pH;
- neutrófilos – não toleram acidez ou alcalinidade;
- acidófilos – crescem melhor em condições ácidas;
- basófilos – crescem melhor em condições alcalinas.

Em várias referências bibliográficas, menciona-se que fungos são mais adaptados a valores de pH menores que 5,0 e bactérias, incluindo actinomicetos (streptomicetos, actinobacterias) e cianobactérias a valores de pH entre 6 e 8 (**Figura 3.20, Tabela 3.16**). Por isso, a sarna-da-batatinha, doença causada pelo actinomiceto *Streptomyces scabies*, pode ser controlada pelo abaixamento do pH do solo (**Figura 3.21**). No entanto, como visto no capítulo 2, existem várias exceções a essas regras, que devem ser consideradas para evitar generalizações errôneas. Exemplos são as bactérias autotróficas oxidantes de enxofre e ferro que toleram pH menor que 1,0 (*Thiobacillus ferrooxidans*). Alguns actinomicetos também são ácido-tolerantes. A menor incidência de fungos em solos com pH entre 6 e 8 é, provavelmente, devida ao fato de que bactérias e actinomicetos sejam competidores mais eficientes prejudicando, assim, o estabelecimento de fungos.

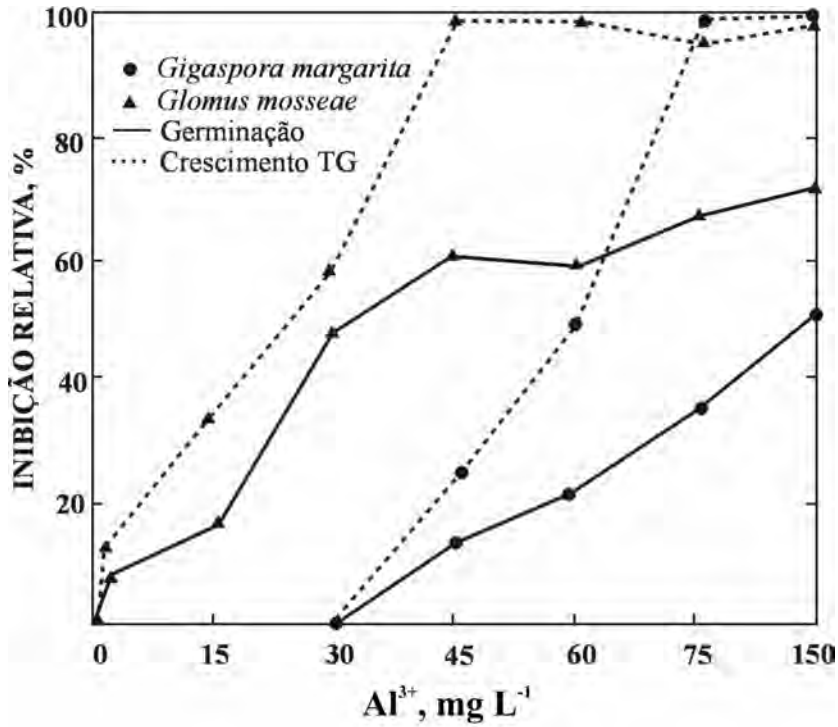


Figura 3.19. Efeito fungistático do Al^{3+} sobre os esporos dos fungos *Glomus mosseae* e *Gigaspora margarita* em placas contendo areia lavada. Cada ponto representa média de 45 esporos incubados por dez dias. Inibição relativa (%) = $100 - [\text{com Al}/\text{sem Al}] \times 100$. (Siqueira et al., 1986.)

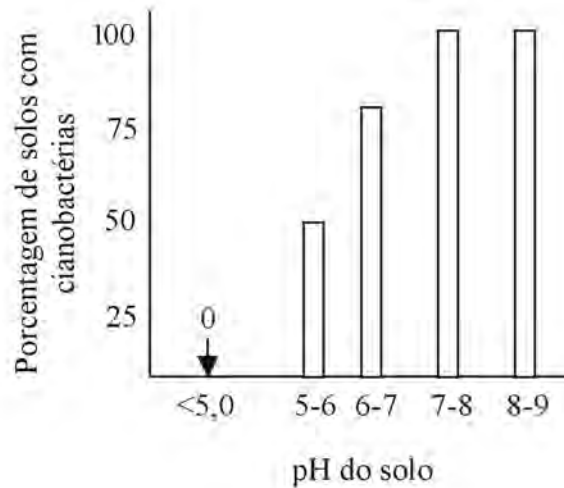


Figura 3.20. Relação entre pH do solo e ocorrência de cianobactérias em solos suecos. (Granhall & Henrikson, 1969, apud Alexander, 1977.)

Tabela 3.16. Densidade (número g⁻¹ solo seco x 10⁴)⁽¹⁾ de estreptomicetos, bactérias e fungos nos horizontes de dois solos de floresta de *Pinus* (Modificado de Goodfellow & Cross, 1974).

Horizontes	pH	Estreptomicetos		Bactérias	Fungos
		Meio ácido	Meio neutro		
Solo 1					
Serrapilheira	3,6	80	0,6	1083	225
A ₁	4,2	0,6	8,0	1810	29,8
C	7,8	0	37,5	3080	1,3
Solo 2					
Serrapilheira	3,9	1,3	2,1	-	-
A ₁	3,7	1,9	0,1	-	8,9
A ₂	4,0	2,1	0,5	-	3,0
B ₁	3,6	2,5	0,1	-	4,5
B ₂	4,4	2,5	0,05	-	0,7

⁽¹⁾ Contagem em placas com meios específicos.

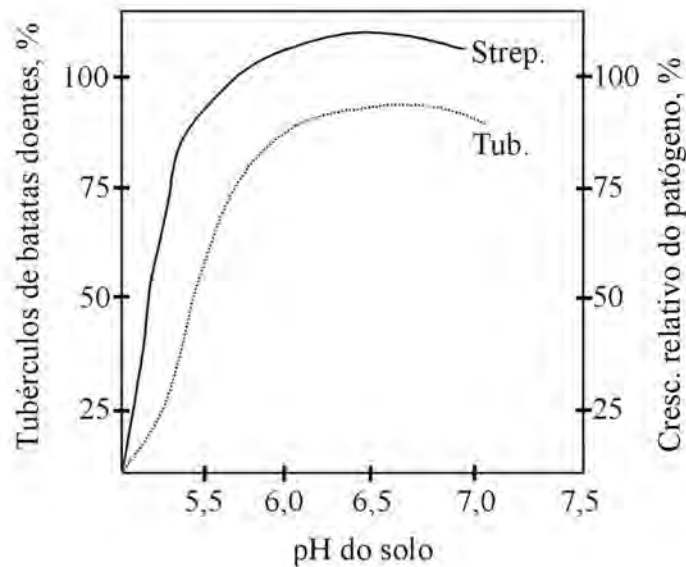


Figura 3.21. Controle através do pH do solo de *Streptomyces scabies* responsável pela sarna-da-batatinha. (Dippenar, 1933, *apud* Alexander, 1977.)

120 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

As células bacterianas contêm cerca de 1.000 enzimas, a maioria pH dependente e associada com componentes celulares, tais como membranas, cuja permeabilidade também é sensível ao pH. A acidez causa desnaturação de proteínas e inibição enzimática. A adsorção de enzimas extracelulares aos humatos eleva seu pH ótimo para valores mais altos. Genes para tolerância à acidez já foram detectados em diversos organismos, relacionados com:

- a) pH estável e apropriado para funções vitais das células;
- b) tolerância à toxicidade de elementos como Al e Mn;
- c) tolerância a deficiências de elementos como Mo e P;
- d) sistemas de membranas capazes de funcionar (energia e transporte) em condições ácidas.

Outro mecanismo de adaptação à acidez é a extrusão de prótons.

3.4.7. Gases do solo

Os gases do solo são os mesmos encontrados na atmosfera e, ainda, aqueles decorrentes da atividade biológica, geralmente transitórios. Gases e água competem pelo espaço poroso do solo. Quando parcial ou totalmente preenchido por água, a disponibilidade de gases para os microrganismos é menor. A solubilidade na água depende do tipo de gás, temperatura, concentração de sais em solução e pressão parcial. Na **tabela 3.17** observa-se que a 20°C, CO₂, O₂ e N₂ têm constantes de difusão no ar cerca de 10.000 vezes maiores que na água; já a solubilidade em água dos dois últimos é muito menor que a de CO₂. A baixa taxa de difusão de N₂ em água torna-o limitante em solos inundados para os organismos diazotróficos, mesmo sendo 78% sua concentração na atmosfera. Já o acetileno (C₂H₂) usado para estimar a atividade da nitrogenase é muito mais solúvel em água, o que pode levar a superestimativas da fixação biológica de N₂ em sistemas aquáticos, quando se utiliza esse método (Ver capítulo 9).

Tabela 3.17. Constantes de difusão de CO₂, O₂ e N₂ no ar e água e sua solubilidade em água a 20°C.

	Constante de Difusão (cm ² seg ⁻¹)		Solubilidade em água* (cm ³ litro ⁻¹)
	Ar	Água	
CO ₂	0,161	0,177 x 10 ⁻⁴	8,878
O ₂	0,205	0,180 x 10 ⁻⁴	0,031
N ₂	0,205	0,164 x 10 ⁻⁴	0,015

* Obs.: Função de tipo de gás, temperatura, concentração de sais, pressão parcial do gás

A taxa de difusão de um gás na água do solo é calculada pela fórmula:

$$Q_i = D_{sai} \frac{dC_i}{dZ}$$

em que:

Q_i = taxa de difusão ($\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$)

D_{sai} = constante de difusão no solo ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

C_i = concentração (g cm^{-3}) na atmosfera

Z = profundidade (cm)

O volume da atmosfera do solo (V_{atm}) é igual ao volume total dos poros (VPT) menos o volume de água do solo (V_{H_2O}). Geralmente, o VPT está em torno de 50 a 60% nos solos e, o V_{H_2O} , em torno de 15 a 30% para solos arenosos e 40 a 45 % para argilosos. A densidade do solo (DS) está em torno de 0,9 a 1,3g cm^{-3} e, a de suas partículas (D_p) em 2,65 g cm^{-3} . O VPT é calculado pela seguinte fórmula:

$$VPT = (1-DS/D_p)100$$

Se um solo tem DS igual a 1,3 e 45% de água, o V_{atm} é de 5%. Como o V_{atm} mínimo para aeração adequada é de 10%, mudanças de metabolismo aeróbio para anaeróbio já estão ocorrendo, em concentrações de O_2 menores que 1%. No entanto, muitos processos anaeróbios, como a redução de sulfato e a desnitrificação, ocorrem em solos não inundados, assim como organismos anaeróbios (e.g., espécies do gênero *Clostridium*) podem ocorrer nas camadas superficiais do solo em populações até 10 vezes maiores que em profundidade. Isso é possível devido à heterogeneidade de micro-*habitats* no solo. Microsítios anaeróbios podem suceder em solos aeróbios devido a diversos fatores como, por exemplo, a intensa atividade respiratória dos aeróbios ou a locais com alta viscosidade e, conseqüentemente, baixa taxa de difusão de O_2 . Embora o metabolismo aeróbio seja mais eficiente em termos de produção de energia (38 moles de ATP/mol de glicose consumida), a fermentação resulta na produção de uma variedade de produtos finais que servem como fonte de substrato e energia para diversos microrganismos, contribuindo para o aumento da diversidade de espécies. Em solos inundados, ocorre acumulação de produtos oriundos de processos fermentativos como compostos orgânicos de cadeia curta (ácidos, álcoois, aldeídos, ésteres, metano) e compostos inorgânicos reduzidos como NH_4^+ , H_2S , H_2 e Fe_2^+ que podem acumular-se a concentrações tóxicas. Gases do solo podem ocasionar poluição ambiental como SO_2 , H_2S , HCl, HF e óxidos de nitrogênio e alguns podem ser mutagênicos em doses subletais (ácidos nitrosos, bissulfito, peroxiacetil nitrato).

Em relação à atmosfera, as concentrações de O_2 e de CO_2 no solo são, respectivamente, bem menores (<5%) e maiores (cerca de 10 a 100 vezes) em função da atividade respiratória dos organismos e das raízes. Estima-se que os microrganismos produzam de 50 a 80% do CO_2 do solo e as raízes de 20 a 50%. No entanto, tais organismos estão adaptados a essas concentrações. Bactérias nitrificadoras quimiolitotróficas apresentam pouca atividade em concentrações de CO_2 iguais a 0,035%. A razão O_2 / CO_2 também pode influenciar a distribuição vertical de microrganismos e induzir mudanças

morfológicas. *Mucor rouxii*, por exemplo, é um fungo filamentosos, mas com o aumento da pressão parcial de CO_2 ($p\text{CO}_2$) apresenta formas do tipo levedura, essa mudança pode ser evitada por pequena quantidade de O_2 . O aumento de $p\text{CO}_2$ também induz encistamento de protozoários. A esporulação de algumas espécies de *Bacillus* e de fungos e a produção de antibióticos são dependentes de concentrações de O_2 mínimas. Outros gases como NH_3 e compostos orgânicos voláteis também induzem mudanças morfológicas em microrganismos.

A variação da pressão atmosférica é muito pequena para ter influência significativa sobre os organismos do solo. Ao nível do mar é de 1,0 atm e a 1.500 metros, de 0,832 atm. Já a pressão osmótica tem ampla variação no tempo e no espaço. Ela pode variar de 0,2 a 1 atm, sendo a concentração do soluto no micro-*habitat* muito maior que na solução do solo. Em períodos de seca, ocorre seu aumento, principalmente em solos salinos e alcalinos. Pressões elevadas levam à diminuição da divisão celular e da mobilidade, redução da atividade enzimática e modificação na virulência de patógenos entre outros. Em pressões osmóticas maiores que 5 atm, ocorre redução da atividade metabólica de bactérias. Porém, a tolerância a sais, varia entre os microrganismos e muitos apresentam tolerância elevada (ver Archaebacteria: Halofílicos extremos no capítulo 2).

3.4.8. Água no solo

Todos os microrganismos do solo podem ser considerados aquáticos, pois necessitam de água para absorção de nutrientes e integridade da superfície celular. Burns (1989) sugeriu que filmes de água são os principais sítios de atividade microbiana, pois a agitação vigorosa não remove as células, que têm propriedades eletrocinéticas e cuja presença foi confirmada por microscopia eletrônica. Os biofilmes podem ser considerados micro-*habitats* do solo e estão nas interfaces sólido-líquido, líquido-gasoso e líquido-líquido (**Figuras 3.22, 3.23**). A água também é importante para o movimento dos microrganismos unicelulares que, por isso, são restritos aos filmes de água enquanto fungos filamentosos e actinomicetos podem atravessar os vazios insaturados, através do crescimento micelial. Substratos e produtos tóxicos podem ficar mais disponíveis aos microrganismos através de seu movimento na água. Já, ciclos de seca/umidade (também congelamento e aquecimento) ajudam a liberar substratos das superfícies das argilas ou de células mortas, estimulando a atividade metabólica dos solos.

O **potencial hídrico** do solo tem dois componentes: o **matricial**, que representa a água atraída por superfícies sólidas, e o **osmótico**, que representa a água em solução do solo. Ambos reduzem a energia livre da água e são, portanto, negativos. A combinação de ambos determina o estresse sofrido por um organismo para obter água para sua atividade e crescimento. Num microambiente do solo, a disponibilidade e atividade de água dependem, em dado momento, de interações entre o conteúdo de água, temperatura e natureza do ambiente coloidal (distribuição do tamanho de poros, estabilidade do agregado e composição mineralógica). Variações sazonais de temperatura e umidade afetarão as comunidades biológicas do solo e sua atividade (**Figura 3.24**). Geralmente, potencial hídrico de - 0,01 MPa é ótimo para a atividade microbiana, ou seja, crescimento microbiano só é possível em atividade hídrica (a_w) entre 0,998 e 0,6. Em baixos potenciais, a maioria das bactérias, dos protozoários e das microalgas é inativa, enquanto leveduras

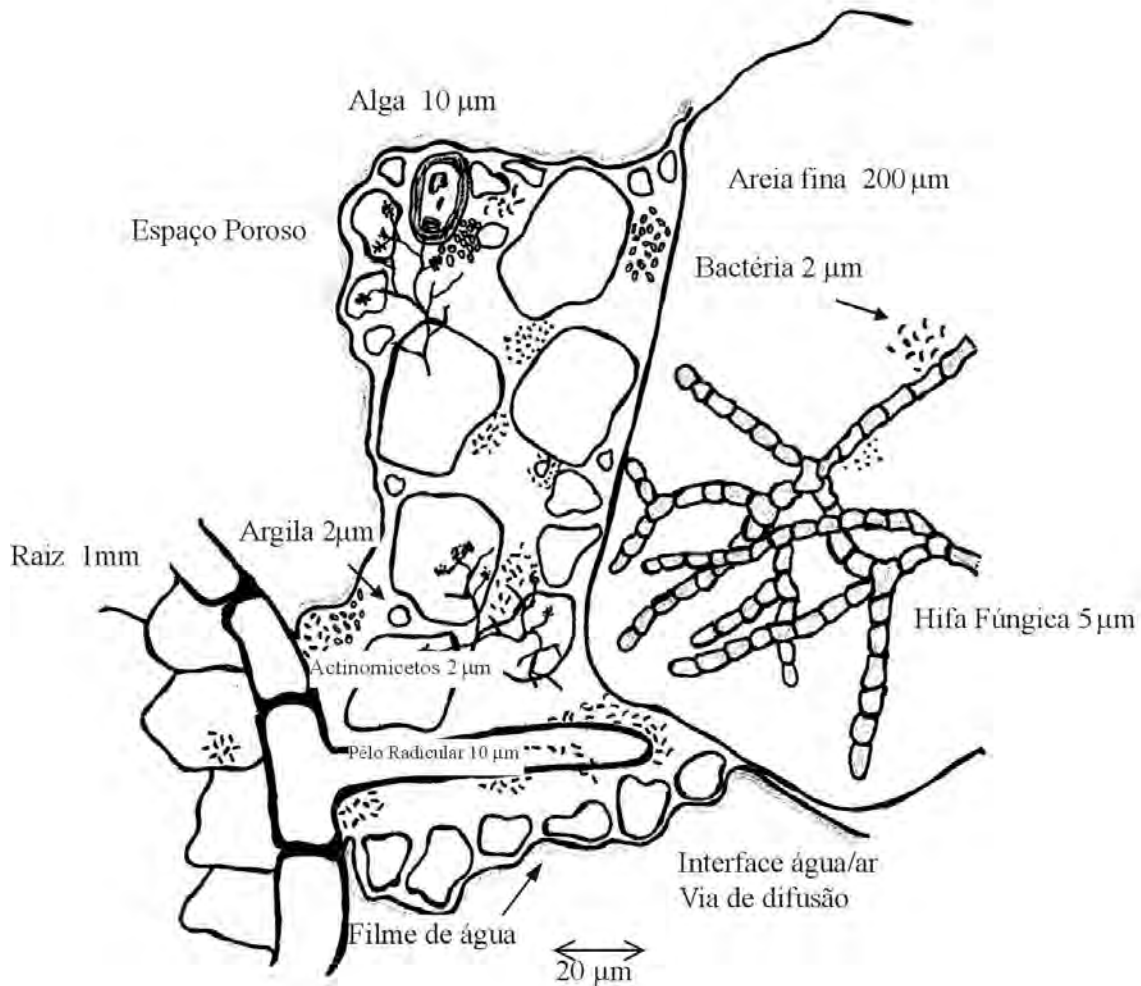


Figura 3.22. Representação esquemática dos componentes bióticos e abióticos dos agregados do solo e filme d'água no solo. (Rowell, 1981. *apud* Richards, 1981.)

e fungos filamentosos continuam seu metabolismo. Na **tabela 3.18**, pode-se observar que espécies de fungos e bactérias esporulantes (e.g., *Clostridium*) toleram potenciais bem menores que bactérias não esporulantes (e.g., *Rhizobium*). Como mencionado, esporos são estruturas de tolerância a diversos estresses, incluindo a seca. A secagem do solo resulta em morte de células vegetativas e aumento da esporulação, como se vê na **tabela 3.19**. A maioria das bactérias precisa de a_w maior que 0,98 (que é a a_w da água do mar a 25°C). As principais exceções são as bactérias halófilicas que crescem em $a_w = 0,75$.

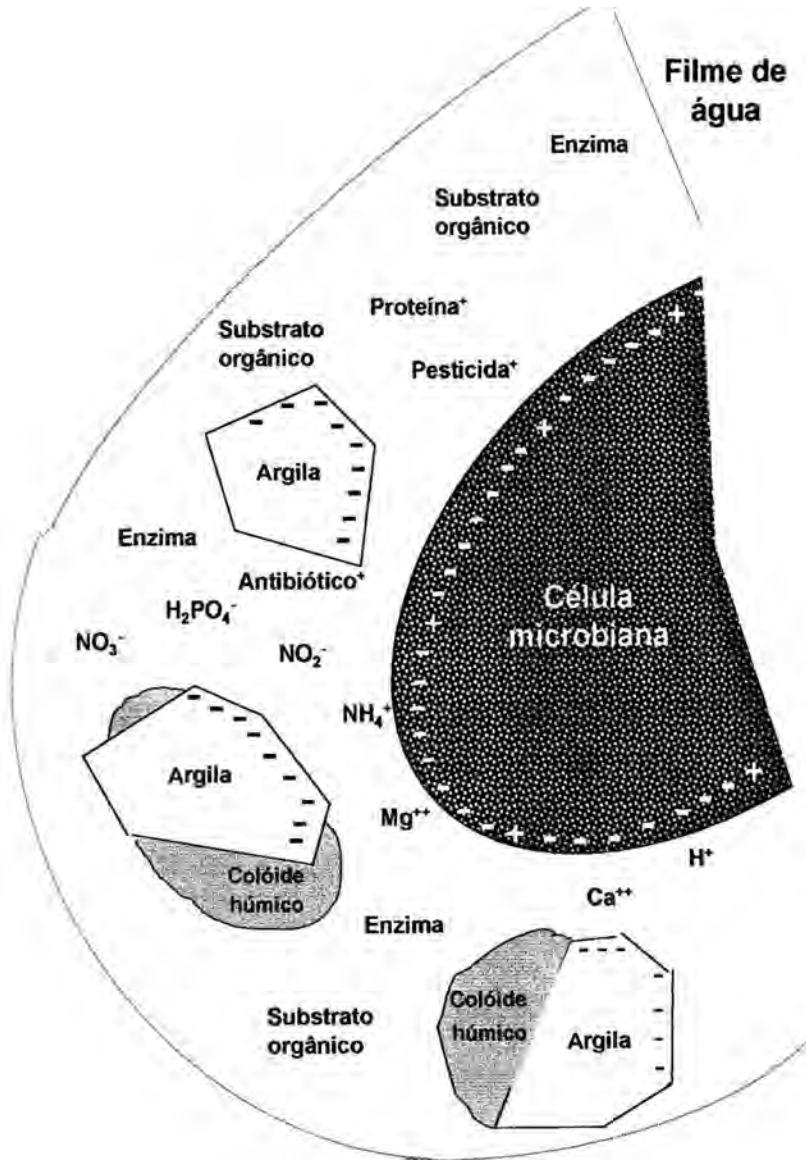


Figura 3.23. Representação do microambiente de filme de água no solo contendo célula microbiana, argila e colóides orgânicos, cátions orgânicos e inorgânicos adsorvidos e íons repelidos. O diagrama representa uma área de aproximadamente 8 μm^2 . (Burns, 1986.)

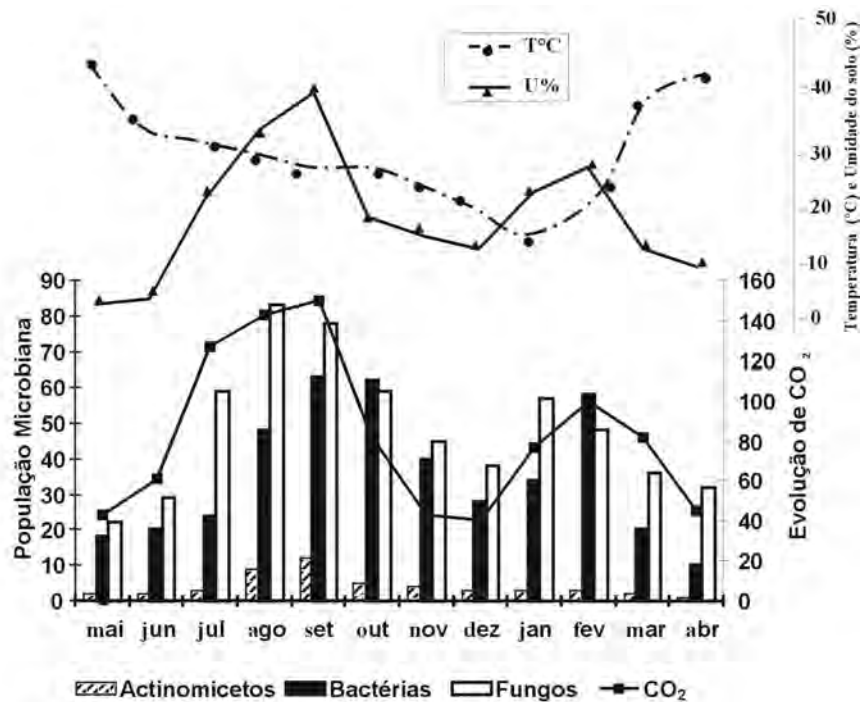


Figura 3.24. Variação mensal na população microbiana (bactérias e actinomicetos $\times 10^5$ e fungos $\times 10^3$. g⁻¹ solo seco), evolução de CO₂ da superfície do solo, temperatura e conteúdo de umidade do solo (1978-1979). (Rai & Srivastava, 1981.)

Tabela 3.18. Níveis de tolerância máxima de alguns microrganismos ao potencial hídrico controlado pela concentração do soluto (Harris, 1981).

Designação do potencial hídrico			Concentração do soluto		Organismo
MPa	bar	Aw	NaCl (P/V)	Sacarose (P/V)	
-1,5	-15	0,99	2,0	17	<i>Rhizobium</i> (B) <i>Xanthomonas</i> (B)
-10	-100	0,93	12,3	52	<i>Clostridium</i> (B) <i>Mucor</i> (F)
-25	-250	0,83	25,5	70	<i>Micrococcus</i> (B) <i>Penicillium</i> (F)
-65	-650	0,62	nd	83	<i>Xeromyces</i> (F) <i>Saccharomyces</i> (F)

Obs.: Fungos (F) são mais tolerantes que Bactérias (B)

Tabela 3.19. Mudanças na população de fungos em solo de pradaria, em vários níveis de umidade (Eggleton, 1934 *apud* Alexander, 1977).

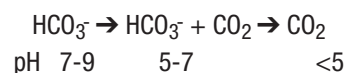
Umidade do solo (% média)	Fungos/g X 10 ³			Esporos, %
	Total	Unidades de hifas	Esporos	
8,9	99	60	39	39
11,2	89	57	32	36
18,5	142	113	29	20
24,2	149	133	16	10
27,1	173	153	20	12

Os halofílicos pode ser divididos em:

- a) halofílicos extremos - crescem melhor em 20-30% de sais
- b) halofílicos moderados - crescem melhor em 5-20 % de sais
- c) pouco halofílicos - crescem melhor em 2-5 % de sais

O movimento de bactérias e zoósporos eucarióticos também é restringido em baixos potenciais (<-0,5MPa). Assim, em altos potenciais hídricos, as células podem-se mover e metabolizar na solução do solo sem envolvimento dos colóides orgânicos e minerais. Já em baixos potenciais, uma fina camada de água é adsorvida aos colóides e células, proporcionando maior concentração de nutrientes e conseqüentemente maior aquisição, mas também maior competição que estará sujeita às propriedades eletroquímicas das superfícies.

A água do solo também afeta outros fatores relacionados com a atividade dos microrganismos, como a aeração, já apresentada no tópico anterior, o pH da solução e a pressão osmótica, além da natureza, quantidade e difusão de materiais dissolvidos (**Figura 3.25**). Sua influência no pH é indireta pelo aumento da concentração de CO₂, como se verifica a seguir:



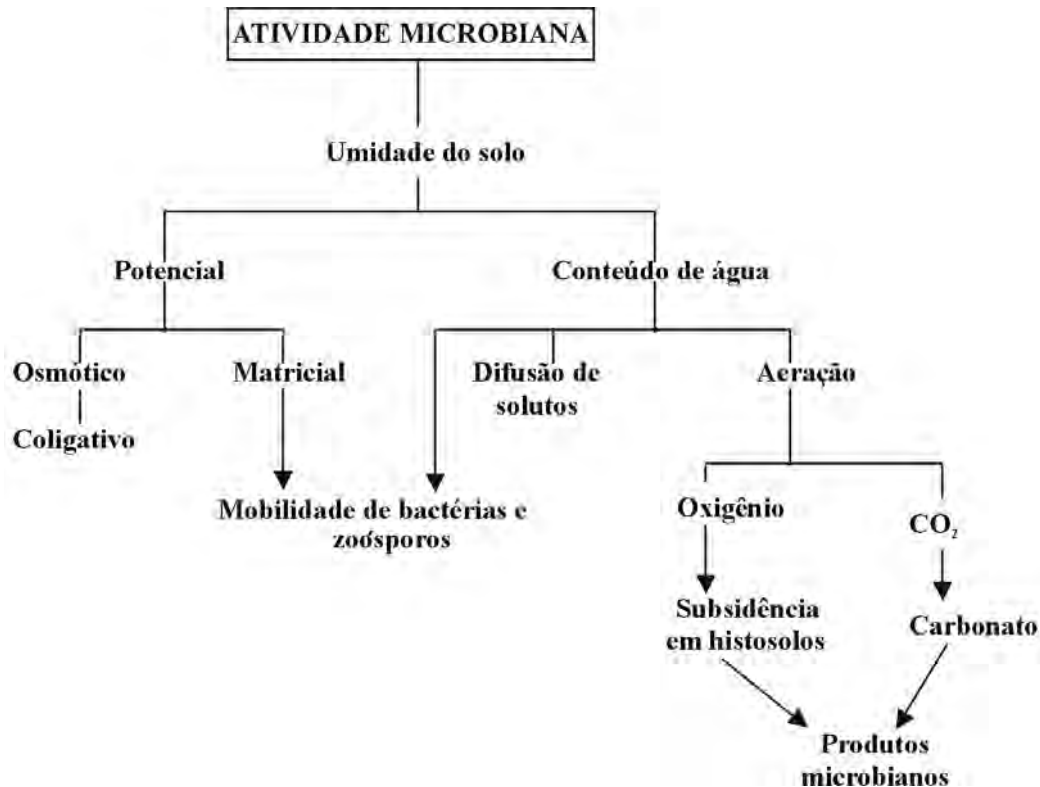


Figura 3.25. Relação entre vários fatores associados com o regime de água do solo e atividade microbiana.

3.4.9. Potencial redox

Os organismos obtêm sua energia da oxidação de materiais reduzidos, removendo elétrons de substâncias inorgânicas e orgânicas para capturar a energia disponível. Por isso, a vida pode ser definida como uma reação contínua de oxirredução. O potencial de oxirredução mede a tendência de uma substância para perder ou aceitar elétrons, sendo uma medida quantitativa da energia livre envolvida na transferência de elétrons. Doadores e aceptores de elétrons são denominados, respectivamente, redutores e oxidantes. O aceptor de elétrons mais comum é o O_2 . Outros exemplos são: NO_3^- , Fe_3^+ , Mn_2^+ e SO_4^{2-} . Vários exemplos de doadores e aceptores de elétrons, orgânicos e inorgânicos podem ser encontrados no capítulo 2.

O potencial redox (Pf), medido em volts, é igual a $-\log[e^-]$. Baixo Pf significa alta doação de e^- e alto Pf tendência a aceitar elétrons. Alguns autores ainda usam a medida Eh. Nesse caso, $Pf = Eh$ (Volts)/0,059. Esse parâmetro pode variar entre micro-*habitats* em até 1.000 mVolts e é afetado por pH, temperatura, pressão e composição atmosférica e, indiretamente, pelo nível de substratos disponíveis.

A sucessão de espécies microbianas é função do pH e do Pf. À medida que o Pf diminui, ocorre transição da predominância de aeróbios para facultativos e, em seguida, anaeróbios. Em função do pH valores ótimos de Pf para processos microbianos podem ser alterados (ver capítulo 4).

3.4.10. Temperatura e radiação solar

A atividade das células microbianas e de outros organismos é governada pelas leis da termodinâmica expressas pela equação de Arrhenius:

$$K = A e^{-E/RT}$$

em que:

K = velocidade da reação

A = frequência na qual as moléculas colidem

E = energia de ativação da reação

R = constante do gás

T = temperatura em graus Kelvin

e = base de logaritmo natural

A temperatura afeta não só as reações fisiológicas das células, mas também características físico-químicas do ambiente (e.g., volume do solo, potencial de oxirredução, pressão, difusão, movimento Browniano, viscosidade, tensão superficial, estrutura da água) que, por sua vez, influenciam o ambiente microbiano. Taxas de reações microbianas no solo são maiores a temperaturas em torno de 28°C e sofrem decréscimos acentuados em temperaturas menores que 25 e maiores que 35°C (**Figura 3.26**).

A temperatura é a principal diferença entre áreas tropicais e temperadas. Em latitudes 23° norte e sul as temperaturas são, em média, 15°C mais quentes, ocasionando taxas de produção primária e degradação muitas vezes mais altas e rápidas. O solo é considerado um isolante térmico. Flutuações de 15 a 18°C ocorrem nos primeiros 5 cm superficiais do solo, enquanto nas profundidades de 10 cm e 30 cm, tais flutuações já são bem menores, 8 a 10°C e 1 a 2°C respectivamente. Devido ao alto calor específico da água, solos úmidos estão menos sujeitos a grandes variações diurnas do que os secos.

Dependendo da faixa ótima de temperatura para seu crescimento e atividade, os microrganismos podem ser divididos em:

- a) criófilos ou psicrófilos – menores que 20°C;
- b) mesófilos – entre 20 e 40°C;
- c) termófilos – superiores a 40°C.

Só organismos procarióticos crescem em temperaturas acima de 60°C. Fatores que controlam a habilidade de um organismo poder operar em baixas temperaturas estão relacionados a estruturas

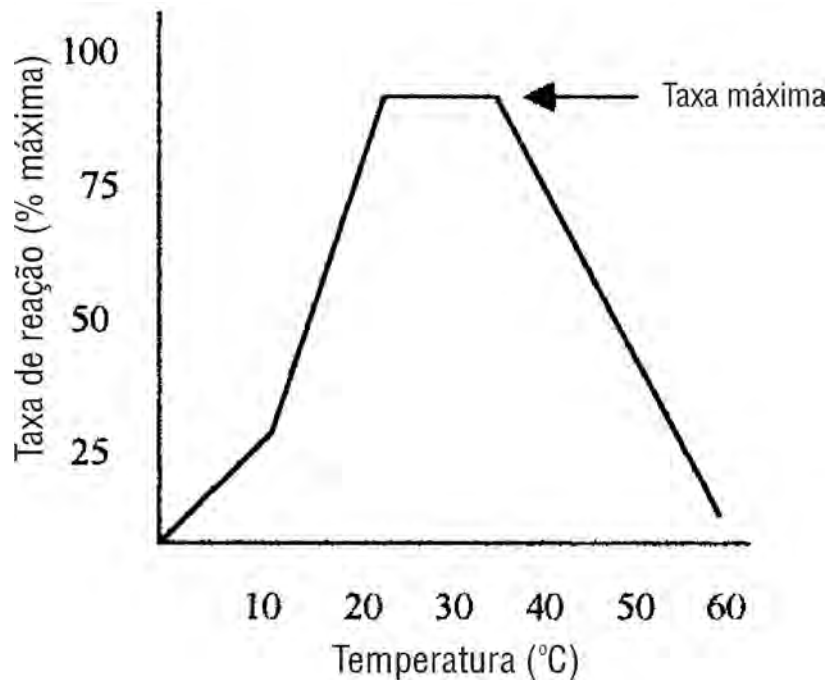


Figura 3.26. Taxas de reação microbiana em várias temperaturas do solo.

celulares. Em temperaturas baixas, todas as proteínas sofrem leves mudanças conformacionais, pois ocorre enfraquecimento das ligações que controlam estruturas terciárias. O grau de saturação de ácidos graxos insaturados nos lipídeos das membranas determina o grau de fluidez em certa temperatura, pois o ponto de fusão dos lipídeos está relacionado com o conteúdo desses ácidos. Assim, o crescimento a baixas temperaturas é facilitado pelo aumento no conteúdo de tais ácidos. A atividade microbiana cessa a 0°C; apenas bactérias psicrófilas podem crescer abaixo do ponto de congelamento. Representantes de muitos grupos microbianos sobrevivem por períodos prolongados em temperaturas muito baixas. Por isso, uma das técnicas de preservação de culturas microbianas é a criopreservação a temperaturas até -196°C (nitrogênio líquido). Altas temperaturas afetam funções metabólicas, causam mudanças estruturais nas moléculas e desnaturam proteínas. Espécies termófilas são capazes de sintetizar proteínas termoestáveis. Um dos melhores exemplos é a *Taq*polimerase isolada de *Thermus aquaticus* que causou uma revolução na técnica de amplificação *in vitro* do DNA (reação em cadeia da polimerase), pois permitiu que reações conduzidas em temperaturas elevadas (separação das fitas de DNA) e médias (ligação dos *primers* e duplicação das fitas) pudessem ser conduzidas sucessiva e repetidamente no mesmo recipiente. Células eucarióticas e células procarióticas vegetativas ficam incapacitadas a 40-50°C e morrem em temperaturas maiores que 70-85°C. Muitas espécies mesófilas, porém, sobrevivem em altas temperaturas devido a estruturas de resistência como esporos, capazes de tolerar temperaturas de 100°C por longos períodos. Espécies termófilas e psicrófilas podem também ser isoladas em solos com

temperaturas médias. Reações endotérmicas e exotérmicas, por exemplo, podem favorecer a existência de microssítios adequados para tais espécies.

Toda a vida na Terra depende da energia solar (calor e fotossíntese). O solo, porém, é escuro, pois apresenta grande restrição à penetração de raios solares. Os maiores efeitos da radiação são através da radiação infravermelha, que afeta a temperatura do solo. Fatores que afetam a radiação solar são: grau de sombreamento, declividade, cobertura da superfície e exposição do declive (norte, sul). Os efeitos diretos da radiação solar são limitados a poucos milímetros superficiais do solo, onde os organismos fotossintéticos (algas e cianobactérias), que necessitam da energia luminosa, ocorrem em densidade mais elevada (Tabela 3.12). O efeito direto na temperatura pode ser usado para fazer a solarização do solo, um processo de desinfestação de propágulos de patógenos. Para isso, cobre-se o solo com plástico transparente, de modo a induzir aumento de temperatura ou deixa-se uma camada fina de solo exposta diretamente aos raios solares. Ghini et al. (2003) mostraram em solos submetidos a solarização do Estado de São Paulo, que a atividade microbiana, avaliada pela hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA), foi reduzida e a supressividade a *Fusarium oxysporum* sp. *phaseoli* foi induzida.

Os efeitos indiretos da radiação são principalmente através das plantas que fornecem substratos para diversos organismos através da rizosfera (ver capítulo 8).

3.5. Interações entre organismos

Cada micro-*habitat* em um tempo ou outro contém células de diferentes espécies que podem estar interagindo positiva ou negativamente. A ausência de interação, ou seja, o neutralismo, é, provavelmente, raro no solo e só deve existir quando: a densidade populacional das espécies é tão baixa que qualquer efeito deletério no crescimento é tamponado pelo ambiente ou, no caso de espécies que tenham um requerimento nutricional muito específico ou quando as espécies tem requerimentos nutricionais bastante dissimilares. A simbiose é outra interação, e pode ser tanto positiva como negativa ou ambas em diferentes fases. Ela é definida como: associação permanente ou prolongada entre organismos dissimilares que é caracterizada por contato físico, troca de metabólitos e de nutrientes, integração morfológica e fisiológica e regulação funcional entre os parceiros (De Bary, 1887). Organismos em simbiose podem ser patógenos, parasitas ou mutualistas. E uma mesma simbiose pode começar com parasitismo e evoluir para mutualismo e vice-versa. As interações positivas permitem que organismos de tipos diferentes possam sobreviver em locais onde nenhum dos dois tipos sobreviveria, ou, ainda, permitir que os dois tipos, ao se complementarem, utilizem maior faixa de recursos. Em ambos os casos, há vantagem seletiva aos dois organismos com interação positiva. As interações negativas podem ser consideradas como tais do ponto de vista do indivíduo, mas, em termos de populações e do próprio ecossistema, podem ser consideradas benéficas, pois evitam explosões populacionais e atuam na seleção natural ocasionando novas adaptações. Assim, as relações entre organismos influenciam vários processos do solo como a mineralização da MOS e de xenobióticos, controle biológico de pragas e doenças, ciclagem de nutrientes, formação de húmus e equilíbrio biológico. A degradação de substâncias complexas, por exemplo, envolve um consórcio de espécies responsáveis por diferentes etapas da

degradação. A **tabela 3.20** resume os efeitos das possíveis interações entre duas populações A e B, que são descritas a seguir:

Interações positivas

Comensalismo - Neste tipo de interação, B não é afetada, interagindo ou não com A. No entanto na ausência de interação, A é prejudicada e quando interage com B, é estimulada. Isso acontece no caso de espécies (A) que necessitam de substratos sintetizados por outras (B) como fatores de crescimento, por exemplo. B também pode favorecer A destoxificando o ambiente, convertendo substratos complexos a formas mais simples que possam ser utilizáveis (nesse caso, quando A não tem o complexo enzimático para tal conversão), induzindo alterações nas propriedades físico-químicas ou transferindo plasmídeos que carregam genes de tolerância ou adaptativos. Uma variação do comensalismo é o supracomensalismo quando B também se beneficia.

Protocooperação - Aqui ocorre benefício mútuo sem obrigatoriedade, ou seja, a ausência de interação não afeta as duas espécies, porém ambas se beneficiam com a interação. Por exemplo, quando uma espécie diazotrófica (A) enriquece o *habitat* com N para outra espécie (B), que, por sua vez, fornece para A uma fonte de carbono prontamente utilizável, ou quando duas espécies fornecem fatores de crescimento uma para a outra. Uma variação da protocooperação é quando só uma espécie se beneficia, mas, sem o benefício, não é prejudicada, pois pode redirecionar seu metabolismo. Em consórcio, bactérias de tipos metabólicos diferentes podem cooperar de maneiras variadas (ver item 2.3.2).

Tabela 3.20. Interações entre espécies que influenciam a atividade, ecologia e dinâmica de populações de microrganismos no solo (Stotzky, 1972 baseado em Odum, 1959).

Interação	Efeitos sobre as populações A e B*			
	Quando não interagem		Quando interagem	
	A	B	A	B
Neutralismo	0	0	0	0
Positivas				
Comensalismo	-	0	+	0
Protocooperação	0	0	+	+
Mutualismo	-	-	+	+
Negativas				
Competição	0	0	-	-
Amensalismo	0	0	-	0
Parasitismo**	0	-	-	+
Predação**	0	-	-	+

* 0 = nenhum efeito; + = efeito positivo; - = efeito negativo

** Espécie A é o hospedeiro e espécie B é o parasita ou predador

132 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

Mutualismo - É uma interação obrigatória que traz benefícios para ambos os parceiros e cuja ausência os prejudica. Um ótimo exemplo é o caso de líquens já abordados no capítulo 2. O mutualismo entre A e B tem vantagens ecológicas como: fontes de nutrientes mais estáveis, proteção contra predadores, parasitas e estresses ambientais, assim como ambiente isolado e favorável para máximo desenvolvimento. A sintrofia metabólica mútua é um tipo de cooperação simbiótica na qual dois diferentes tipos metabólicos de bactérias dependem uma da outra para a degradação de certo tipo de substrato, através da transferência de um ou mais intermediários metabólicos entre os parceiros. Como exemplo clássico, pode-se citar as estirpes S e M.o.H. de *Methanobacillus omelianski* na conversão de etanol para acetato e metano pela transferência de hidrogênio entre as duas espécies.

Interações negativas

Competição - Fenômeno importante no solo que se refere, de modo geral, à luta pela utilização de recursos necessários à sobrevivência, ocasionando a inibição mútua das espécies quando elas interagem. No solo, as espécies A e B competem por substratos de carbono (especialmente aqueles utilizados por amplo espectro de hospedeiro, como os de cadeia mais curta e.g., glicose), nutrientes, fatores de crescimento, O₂, água, espaço etc. A capacidade genotípica e as taxas de respostas fenotípicas (e.g., crescimento rápido, enzimas extracelulares, esporos com rápida germinação) são as principais características do organismo que afetam sua capacidade de competir eficientemente.

A alelopatia (allelon = recíproco; pathos = sofrimento) é mencionada por ecologistas como outro tipo de competição que se refere à interferência de um organismo sobre outro, geralmente mediada por metabólito ativo. A alelopatia é o termo usado para a excreção de sinais químicos (ou substâncias aleloquímicas) que forneçam uma vantagem competitiva de uma espécie sobre a outra e é também denominada "antibiose". Pode ocorrer entre espécies microbianas, vegetais e entre espécies vegetais e de microrganismos e, em sua forma mais branda pode ser considerada amensalismo. Há muita controvérsia na literatura sobre a definição dos efeitos alelopáticos; os microbiologistas consideram que tais efeitos entre organismos podem ser prejudiciais ou estimulatórios, diretos ou indiretos, não considerando uma relação necessariamente recíproca, podendo ser unilateral. Se levarmos em consideração o significado da palavra alelopatia, essa é uma interação prejudicial e recíproca que se encaixa mais na definição de competição que de amensalismo ou simbiose, tanto parasítica como mutualista. Assim, a própria antibiose, onde geralmente há o prejuízo de só um, não poderia ser chamada de alelopatia.

Amensalismo - Nessa interação uma das espécies ganha a luta pela sobrevivência por sua habilidade de excretar produtos que afetam o desenvolvimento da outra espécie, através de efeitos diretos (e.g., produção de substâncias inibidoras ou letais) ou indiretos (e.g., produção de metabólitos que alteram um ou mais fatores ambientais). Exemplos de inibidores que podem agir direta ou indiretamente são: NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, CN⁻, H₂S, H₂O₂, CO, CO₂. Outros são: ácidos fórmico, acético, láctico, propiônico e butírico, alguns álcoois e aldeídos. Antibióticos são substâncias inibidoras a concentrações extremamente baixas produzidas, principalmente, por actinomicetos (actinobactérias) que ocorrem no solo em

populações significativas como as mostradas na **tabela 3.21**. Outros tipos de compostos, como toxinas, também são produzidas por várias espécies que têm forte efeito inibitório sobre outras.

Parasitismo - Nesta interação, a espécie B é prejudicada na ausência de interação e beneficiada quando ela ocorre em detrimento de A. O caso mais típico é quando A se torna fonte de alimentação para B. Para que isso continue ocorrendo, no entanto, B deve manter A viva. Fungos geralmente são parasitas de outros fungos ou de outros organismos do solo. Bactérias como *Bdellovibrio*, por exemplo, também podem parasitar outras bactérias.

Predação - É a relação mais dramática entre organismos: é quando uma espécie é a própria fonte de alimento de outra. Protozoários, nematóides, myxobactérias e microartrópodos predam outros organismos como bactérias, esporos e micélios de fungos e nematóides, por exemplo. A **figura 3.27** ilustra a predação de bactérias *Xanthomonas campestris* por protozoários *in vitro*. Predação e parasitismo às vezes se confundem. Por exemplo, alguns fungos não matam a presa imediatamente, antes crescem e esporulam endoplasmaticamente no hospedeiro. A predação tem efeitos negativos sobre os indivíduos, mas exerce uma pressão seletiva benéfica sobre populações, que podem tornar-se mais ativas ou versáteis para escapar dessa interação.

Deve-se ressaltar que, no solo, várias populações estão interagindo simultaneamente de diversas formas. Além disso, o próprio ambiente afeta tais interações. Os resultados de Lussenhop (1996) ilustram bem esse fato: dependendo da concentração de fósforo e densidade populacional de *Colembola*, estas podem dispersar esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e estimular o crescimento das hifas (baixo P, densidade populacional média) ou podem reduzir a colonização através da predação das hifas externas (alto P, alta densidade populacional) ou não afetar os FMA (baixa densidade).

Tabela 3.21. Sensibilidade natural de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. aos antibióticos produzidos por 204 isolados de actinomicetos oriundos de solos de cerrado (Pereira et al., 1999).

Estirpes	Actinomicetos	
	Antagônicos	Antagônicos específicos da estirpe
	%	
BR 29	5,2	1,6
BR 96	9,9	4,2
BR 33	20,3	5,7
BR 85	16,1	3,6
47/587	16,7	1,0
BR 40	9,9	0
BR 86	7,8	0
3b/7	14,6	4,2
4A-5	13,0	1,0

134 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

Segundo Odum (1983), as interações negativas tendem a predominar em comunidades pioneiras ou em condições perturbadas, onde a seleção *r* (ver capítulo 2) neutraliza alta mortalidade. Na evolução e no desenvolvimento de ecossistemas, as interações negativas tendem a ser minimizadas em favor da simbiose positiva (mutualismo), que melhora a sobrevivência das espécies interativas.

Além das interações positivas citadas, outra interação é o *Quorum sensing* ou senso de *quorum*. As bactérias têm a habilidade de "sentir" e adaptar-se constantemente a flutuações ambientais, respondendo a esses estímulos através da transdução de sinais em cascatas, que levam a mudanças na expressão gênica. Bactérias sentem e respondem a flutuações na mudança da densidade populacional e da composição de espécies, usando uma comunicação célula a célula, entre espécies e na espécie, denominada *Quorum sensing*, que envolvem moléculas pequenas (como hormônios) que atuam como autoindutores. Isso permite que as bactérias coordenem a expressão gênica de toda a comunidade, fazendo-as se comportarem como um organismo multicelular. Desde sua descoberta (Engelbrecht et al., 1983), este fenômeno foi detectado em várias bactérias gram-negativas e gram-positivas, verificando-se também que pode sofrer interferência de organismos eucarióticos.

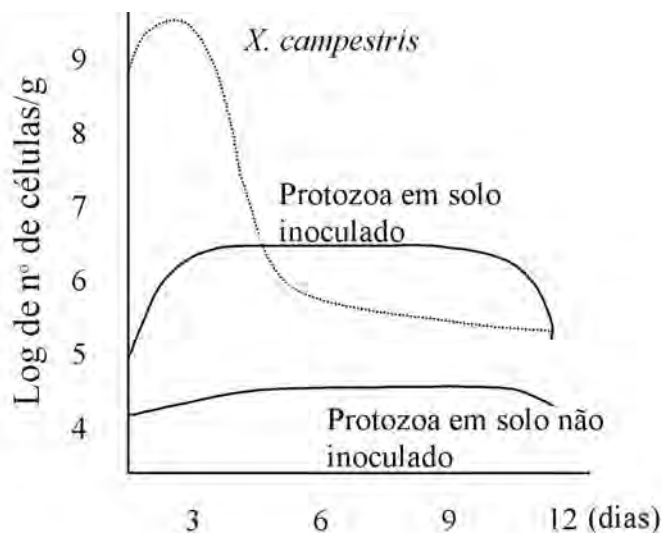


Figura 3.27. Número de protozoários em solo inoculado com *Xanthomonas campestris* e em solo não inoculado. (Habte & Alexander, 1975, *apud* Alexander, 1977.)

3.6. Efeitos antropogênicos

A atividade humana pode causar modificações significativas nos fatores químicos e físicos do solo, seja pela adição ou remoção de elementos (e.g., adubação, calagem, exportação por colheita), seja por práticas de cultivo (e.g., plantio convencional, direto) que causarão impacto na comunidade biológica (CB). A adubação, química ou orgânica, geralmente aumenta a CB através do aumento da disponibilidade de nutrientes e/ou fontes de carbono (Figura 3.16). No entanto, simbioses radiculares, como as de rizóbio e de fungos micorrízicos, podem ser inibidas por quantidades elevadas de N e P respectivamente. O plantio direto parece favorecer a CB em relação ao plantio convencional (**Tabela 3.22 e 3.23**), principalmente pelo maior acúmulo de matéria orgânica vegetal, que é fonte de C e nutrientes para a CB e ausência de mecanização. A prática da queima dos restos vegetais pode ter efeito deletério sobre a CB, visto que a maior parte dela está localizada nas camadas superficiais, menos protegidas do efeito isolante térmico do solo. No entanto, pela maior disponibilidade de nutrientes ela pode ter efeito positivo resultando em efeito líquido benéfico (Tabela 3.23).

Compostos ou elementos tóxicos (e.g., xenobióticos, metais pesados) adicionados ao solo através de diversas atividades antrópicas (agrícolas, indústrias, mineradoras) têm efeitos prejudiciais à microbiota. Por exemplo, o número de bactérias, fungos, actinomicetos e a biomassa microbiana foram bastante reduzidos em solo com alta contaminação de zinco, cobre e cádmio (ver capítulo 4). Por isso, os organismos do solo podem ser importante ferramenta em estudos de avaliação da qualidade dos solos, sob interferência.

Conforme relatado, diversos fatores afetam os organismos de solo, por isso suas populações são extremamente variáveis, dependendo do tipo de solo, da vegetação e das condições climáticas. Assim, grandes variações podem ser encontradas entre ecossistemas distintos na mesma região (**Tabelas 3.24 e 3.25**) ou de distintas regiões geográficas.

Além disso, a grande variabilidade dos micro-*habitats* com seus respectivos microambientes, permite a coexistência de organismos com características bastantes distintas.

Tabela 3.22. Microartrópodes, biomassa microbiana C e N e respiração basal em plantio direto e convencional (Crossley et al., 1992 e Balota et al., 1998).

Parâmetro biológico	Plantio convencional	Plantio direto	Aumento relativo (%)
Microartrópodes (n° /m ² X 10 ³)*	28,9	83,1	+188
Biomassa C** µg/g solo seco	149,33	319,06	+114
Biomassa N*** µg/g solo seco	29,71	56,60	+91
Respiração basal µg/g/dia de C-CO ₂	2,76	4,79	+74

*Colêmbola, Oribatídeos, Mesostigmata, Prostigmata, Astigmata e outros.

Fumigação-incubação; *Método de Brookes et al., 1985.

Tabela 3.23. Populações microbianas em solo submetido a diferentes sistemas de manejo em cultivos sucessivos de soja e trigo no Rio Grande do Sul (Extraído de Silva & Vidor, 1984).

Sistema de manejo	Microrganismos				
	Nº de propágulos X 10 ⁴ por grama de solo seco				
	Bactérias ¹	Fungos ²	Actinomicetos ³	Celulolíticos ⁴	Solubilizadores ⁵
Plantio direto com queima	6.190	5,4	387	3,03	76
Plantio direto sem queima	4.090	6,8	657	2,40	43
Plantio convencional com queima	3.230	7,4	640	3,14	30
Plantio convencional sem queima	5.520	8,2	852	3,20	57

Meios empregados: ¹Thornton ²Martin ³Caseinato dextrose ágar ⁴Celulose ágar ⁵Glicose-extrato de solo.

3.7. Métodos de avaliação da biota do solo

Como visto nos tópicos anteriores, milhares de espécies de organismos habitam o solo, onde exercem os mais diversos tipos de atividade, influenciando o ambiente edáfico e sendo influenciadas por ele. Métodos para avaliar a densidade e a diversidade desses organismos e os processos que intermediam têm sido desenvolvidos de modo a identificar os componentes e as reações dessa caixa-preta que é o ecossistema solo. Neste tópico, não serão abordados detalhes dos métodos existentes, mas apenas os conceitos e/ou pontos fundamentais necessários à compreensão de como auxiliam na ecologia do solo. Maiores detalhes podem ser obtidos na bibliografia listada.

A **figura 3.28** mostra uma síntese dos diversos passos e tipos de avaliação dos organismos do solo atualmente possíveis. O primeiro passo, sem dúvida, é a amostragem, que deve ser representativa da avaliação-alvo, de modo que não haja ou se minimizem sub ou superestimativas. A regra geral é coletar o maior número possível de amostras, de modo a compatibilizar tempo, recursos e capacidade de trabalho disponíveis. Amostras compostas, representando todo espaço a ser estudado, devem ser constituídas por amostras individuais de mesmo peso e volume, retiradas da mesma profundidade e/ou horizonte. Além do espaço, o tempo é fator a considerar a variabilidade do parâmetro a estudar, pois, como visto, fatores relacionados a variações sazonais (temperatura, umidade etc.) têm grande influência na atividade microbiana. As amostras podem ser ainda do tipo perturbadas ou não

Tabela 3.24. Biomassa microbiana C e densidade de organismos do solo em cinco sistemas de uso da terra na Amazônia (Moreira et al., 1999).

Parâmetro biológico	Sistemas de uso da terra ⁶				
	Floresta perturbada	Sistema agroflorestal ⁷	Capoeira	Pastagem	Cultura anual ⁸
Biomassa microbiana C ¹ µgC/g solo	646 a ⁵	213d	530b	385c	464c
Nematóides nº de indivíduos ² X 10 ⁶ /m ³ de solo	1,7145ab	1,2985b	1,5966ab	2,4012a	1,225b
Biomassa de minhocas ³ g/m ² solo	6,4b	5,1b	0,8b	52,9a	3,7b
Densidade de termitas ³ Indivíduos/m ² solo	370ab	726a	816a	30b	1286a
Densidade de formigas ³ Indivíduos/m ² solo	254ab	653a	562ab	202b	198b
Esporos de fungos endomicorrízicos ² Nº/100 g solo	138bc	63d	125cd	213a	191ab
Rizóbio ⁴ Log nº de células/g solo	2,70ab	1,79b	3,25ab	3,51a	2,72ab

¹ Método da fumigação-extração; ² Método da extração (flotação e peneiramento); ³ Método da captura; ⁴ Método das diluições sucessivas e inoculação em siratro; ⁵ Médias com letras diferentes na mesma linha diferem a 5% pelo teste de Tukey, com exceção de rizóbio 5% Duncan; ⁶ Médias de 3 locais; ⁷ Cafeeiro e seringueira, cafeeiro e *Schizolobium amazonicum*, cacaueteiro e pupunheira e castanheira; ⁸ arroz, feijão e mandioca.

perturbadas. As primeiras podem ser retiradas com trados, enxadas ou similares, podendo ainda ser utilizada uma moldura para uniformizar área e profundidade das amostras. As amostras não perturbadas, também denominadas intactas ou não deformadas, podem ser retiradas com cilindros de metais ou similares, de modo a não alterar a estrutura do solo. Em alguns casos, é necessária a fixação das amostras de modo a impedir qualquer mudança na característica microbiológica de interesse. Procedimentos de fixação incluem: tratamento com glutaraldeído e formalina, congelamento rápido com nitrogênio líquido ou em gelo seco/etanol, esfregações secas ou filmes em lâminas de vidro ou remoção de amostras gasosas (Madsen, 1996). Amostras adicionais devem ser retiradas para caracterização química e física do solo, além de sua classificação pedológica, as quais podem fornecer informações importantes sobre os parâmetros biológicos avaliados, através de

138 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

Tabela 3.25. Frequência (%), densidade total (número de indivíduos por m²) e diversidade (Índice de Shannon) de grupos de fauna extraídos pelo método Berlese-Tüllgren em solos com diferentes coberturas vegetais do Parque Estadual do Desengano (Norte do Estado do Rio de Janeiro) no verão (Modificado de Moço et al., 2005).

Grupos de Fauna	Cobertura Vegetal				
	Eucalipto	Floresta não preservada	Floresta preservada	Capoeira	Pasto*
Homóptera %	4	8	32	10	5
Coleóptera %	1	3	0	1	1
Isopoda %	2	4	15	5	6
Pseudoscorpionida %	1	0	1	0	0
Larvas de Diptera %	1	8	3	1	0
Larvas de Coleoptera %	2	2	8	1	0
Hymenoptera %	60	29	29	68	63
Isoptera %	6	8	1	10	0
Collembola %	5	23	4	1	5
Outros** %	18	15	7	2	20
Densidade total	262	1.357	1.299	400	397
Diversidade	2,66	3,19	2,96	1,85	2,29

*Os dados de pasto são referentes ao sistema solo-serrapilheira, pois não houve separação dos compartimentos.

**Outros grupos comuns às 5 coberturas vegetais: Diptera, Heteroptera, Thysanoptera, Blattodea, Symphyla, Araneae, Chilopoda. Outros grupos presentes sob até 4 coberturas vegetais: Psocoptera, Orthoptera, Gastropoda, Lepidoptera (larvas), Oligochaeta, Diplura, Dermaptera, Thysanura, Diplopoda, Embioptera, Neuroptera (larvas), Protura.

análise multivariada. Características químicas e físicas importantes são: pH, matéria orgânica, Al trocável, N, P e S totais, K, Ca e Mg trocável, CTC, C e P orgânico, teores de micronutrientes, textura, densidade real e aparente, entre outras.

O transporte deve ser imediato, resfriando-se as amostras e colocando-as em recipiente com isolamento térmico, evitando vibração ou agitação das amostras intactas. O armazenamento das amostras deve ser de 2 a 4°C por até 4 semanas ou a -20°C para períodos maiores. Antes da análise, recomenda-se fazer uma pré-incubação à temperatura ambiente por 24 a 48 horas, de modo a possibilitar o restabelecimento e o equilíbrio de atividade. No caso da biomassa microbiana, recomenda-se incubar por 8 dias no escuro, pois a luz poderia propiciar o crescimento de organismos fotossintéticos, levando a superestimativas.

Antes de vários procedimentos de avaliação, são necessários tratamentos de esterilização, ou seja, a eliminação de todos os organismos vivos de materiais, soluções e meios de cultura utilizados que poderiam contaminar as amostras a analisar, incluindo: fogo, temperatura alta com umidade (vapor) e com ou sem pressão, temperatura alta em condições de ausência de umidade, filtragem em papéis especiais com poros muito pequenos, radiação e diversos produtos químicos (e.g., óxido de etileno, bicloreto de mercúrio, brometo de metila) (Alef, 1995). Alguns desses produtos químicos, como o bicloreto de mercúrio, são muito tóxicos e oferecem risco, se eliminados para o ambiente; por isso, são substituídos em alguns métodos por outros produtos como o peróxido de hidrogênio. Em alguns casos, como de nódulos e sementes, é requerida apenas uma desinfestação superficial, uma vez que a



Figura 3.28. Métodos de avaliação de ocorrência, diversidade, densidade e atividade de organismos do solo.

esterilização mata a semente e os bacteróides dentro dos nódulos. Em tais casos, produtos químicos como o peróxido de hidrogênio e hipoclorito de sódio em soluções, são os mais indicados. O tempo de exposição varia em função do tamanho do nódulo, devendo o produto ser removido após a desinfestação, por lavagens sucessivas com água esterilizada. Para sementes com tegumento duro, ácido sulfúrico concentrado terá a função dupla de desinfestar e quebrar a resistência do tegumento.

As características avaliadas referem-se à densidade, à diversidade e à atividade de organismos específicos ou de comunidades. Serão mencionados alguns métodos, geralmente aqueles mais empregados ou relacionados a grupos funcionais-chave (**Figura 3.29**), para exemplificar os diferentes tipos de avaliação. A literatura citada é bastante ampla e aborda outros métodos.

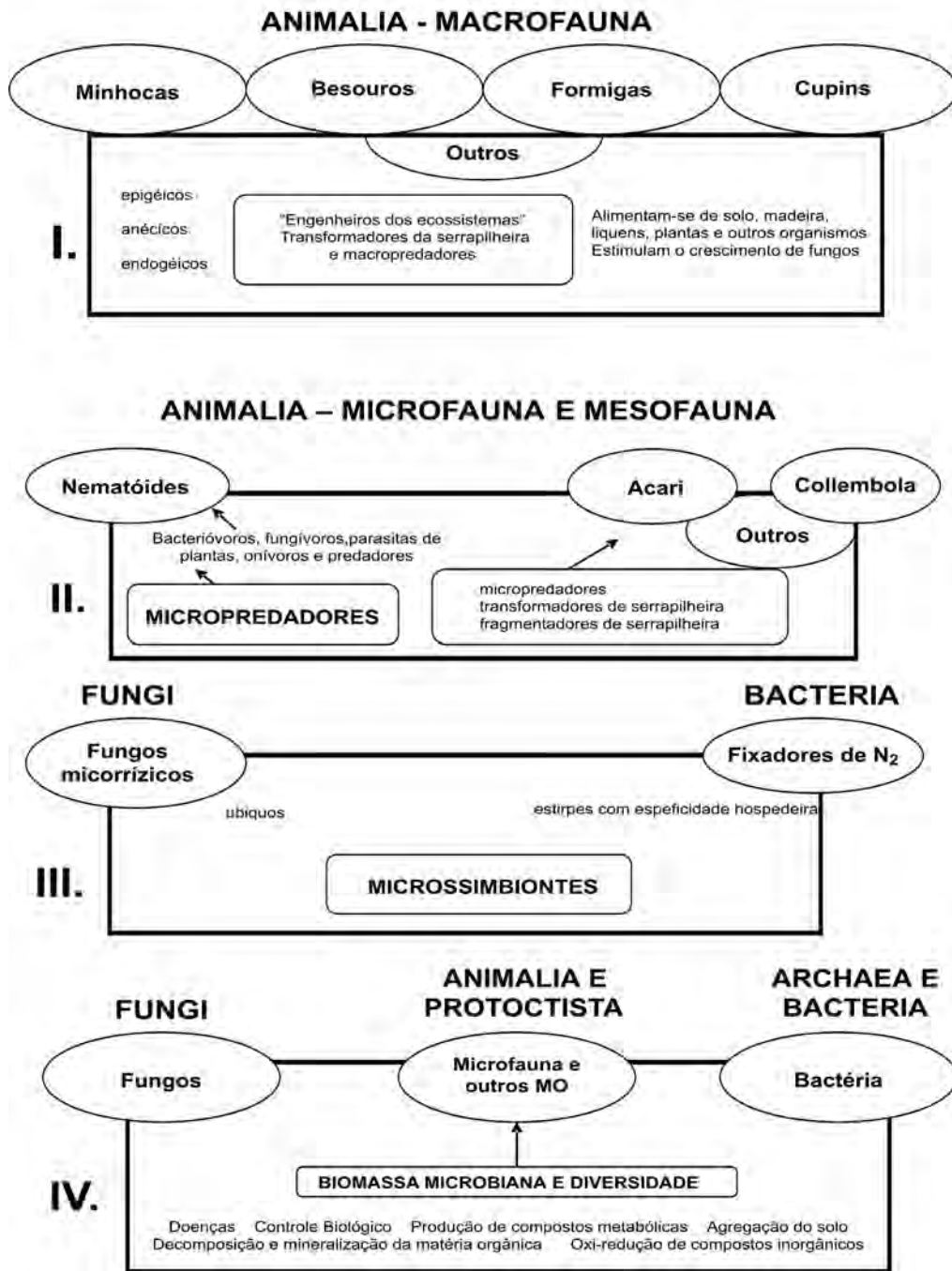


Figura 3.29. Grupos-chave principais de organismos do solo. (Modificado de Swift & Bignell, 2001.)

3.7.1. Densidade/diversidade

3.7.1.1. Avaliações diretas

Numa avaliação direta, pretende-se observar o(s) organismo(s) como ocorre(m) em seu *habitat*, ou ainda avaliá-lo(s) após um método de coleta relativamente simples. Podem ser citados como exemplos:

a) avaliação da nodulação por rizóbio em leguminosas - retira-se do solo o sistema radicular intacto da planta, com auxílio de uma enxada e afofando a terra gentilmente de modo a não deixar que os nódulos se destaquem da raiz. Os nódulos são contados e pesados;

b) galhas formadas por nematóides nas raízes são muitas vezes confundidas pelos menos experientes com nódulos de rizóbio. No entanto, é muito fácil diferenciá-las. As galhas são espessamentos das raízes e não podem ser facilmente destacados dessas como no caso dos nódulos;

c) a presença de fungos ectomicorrízicos pode ser observada a olho nu, pois as raízes colonizadas apresentam alterações morfológicas tornando-se mais espessas e curtas. A rede de Hartig formada por colonização intercelular do micélio fúngico, pode ser observada no microscópio em cortes transversais de raízes. Basidiósporos ("puff balls") de fungos ectomicorrízicos são também visíveis a olho nu sobre o solo e próximos a espécies de plantas colonizadas por eles como *Pinus* spp., *Eucalyptus* spp. e *Acacia mangium*. Após chutadas no campo, forma-se uma nuvem de "poeira" grossa;

d) biomassa e densidade de macrofauna – delimita-se a área (25 X 25 cm) a ser amostrada em profundidade de 0 a 30 cm, separada em camadas de 10 cm, após remoção da serrapilheira que será também analisada. Essas camadas são cortadas em fatias como um bolo e a macrofauna é simplesmente catada e colocada em vidros com solução de formaldeído (4%), para pesagem, contagem e identificação posteriores no laboratório (Anderson & Ingram, 1993);

e) observações do número e a forma de células, esporos, hifas ou outras estruturas microbianas em microscópios comuns ou eletrônicos em amostras tratadas com corantes e fixadas (Bottomley, 1994). Podem ser observadas através de colonização de células em membranas, lâminas de vidro ou outros substratos inseridos no *habitat*. É uma técnica trabalhosa, uma vez que grande quantidade de campos necessita ser examinada e revela pouca informação sobre células individuais;

f) raízes colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares são clareadas (com KOH e H₂O₂), submetidas à coloração com azul-de-tripano e observadas em microscópio estereoscópico, de campo escuro, ou contraste de fase.

3.7.1.2. Avaliações semidiretas

Nesse tipo de avaliação, as amostras de solo são submetidas a algum processo ou tratamento mais complexo que causa pouca ou nenhuma alteração na característica a ser estudada. Células ou componentes celulares são tratados com corantes fluorescentes, com ou sem antígenos (anticorpos) específicos (Van Vuurde & Vander Wolf, 1995) ou ligados a sondas genéticas, que são segmentos de DNA específicos

marcados com corantes fluorescentes ou por radioatividade, utilizados para detectar a presença de uma seqüência complementar de DNA ou RNA através de hibridização (Bottomley, 1994), para visualização em microscópio específico (**Tabela 3.26**). Hifas ativas de fungos, por exemplo, podem ser detectadas com diacetato de fluoresceína (FDA), uma vez que esta é hidrolisada para fluoresceína (que pode ser detectada com iluminação UV), apenas em células vivas. No caso de sondas genéticas é também utilizada microscopia confocal a *laser* que tem alta resolução. Nesses casos, reque-ser um conhecimento prévio das propriedades celulares. Sondas fluorescentes para hibridização *in situ* (Fish – Fluorescent *in situ* hybridization) podem ser usadas para avaliação da distribuição e função de microrganismos por exames diretos ao microscópio. A ocorrência de um determinado organismo no solo pode ser verificada se ele tem genes marcadores de resistência a antibióticos ou genes marcadores para o catabolismo de substratos específicos tornados detectáveis pela quebra de corantes como o gene *lac Z* (β -galactosidase) e o *gusA* (β -glucoronidase).

Métodos de extração são também um pouco mais complexos que nas avaliações diretas. Por exemplo, esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e nematóides são extraídos colocando-se a amostra de solo em água, agitando essa suspensão por 30 segundos e aguardando 2 minutos para permitir decantação, de modo a eliminar a maioria das partículas maiores. Posteriormente, a fase superior da suspensão é passada em peneiras de tamanho de malhas adequado (710 μm e 45 μm para FMA e 250/350 μm e 37 μm para nematóides). Posteriormente, efetua-se nova suspensão em solução de sacarose do material retido na peneira menor (45 μm para FMA e 37 μm para nematóides). Para FMA, essa suspensão é centrifugada (2000 rpm por 1 minuto) e, o sobrenadante, passado em peneira de 45 μm , onde ficaram retidos os esporos. Para nematóides, a suspensão em sacarose é centrifugada a 3.500 rpm por 5 minutos e, o sobrenadante, descartado. O resíduo é ressuspenso em solução de sacarose e centrifugado novamente (1000 rpm por 2 min). O sobrenadante é passado em peneira de 37 μm onde ficam retidos os nematóides.

A extração da mesofauna do solo é feita pelo método de Berlese-Tullgren, que consiste em colocar amostras de solo e serrapilhera em funis sob lâmpadas que aquecem gradualmente as amostras fazendo com que a mesofauna repelida pelo calor se dirija para o lado oposto do funil, onde existe uma solução de álcool (70%) coletora. Neste método, evita-se o calor excessivo para não ocasionar morte dos organismos.

3.7.1.3. Avaliações indiretas

Nessas avaliações, os processos de extração são bem mais complexos que os anteriores, e muitas vezes, baseados em premissas.

3.7.1.3.1. Cultivo e avaliação da ocorrência, densidade e diversidade de microrganismos em meios nutritivos

Por sua facilidade de execução, é o mais adotado dos métodos de avaliação da ocorrência, densidade e diversidade, embora sofra de séria limitação, pois estima-se que apenas cerca de 1% ou menos dos organismos do solo seja cultivável, isto é, apresentem crescimento em meio de cultura. Assim, contagens por esse método apresentam sempre resultados subestimados da densidade de organismos do solo. Além disso, características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas em meio de cultura não refletem,

Tabela 3.26. Tipos de microscópios e sua aplicação na microbiologia (Modificado de Pelczar et al., 1997).

Tipo de microscópio	Ampliação máxima útil	Observação do espécime	Aplicações
Microscópios luminosos ou óticos com resolução até 0,25 μm			
Campo claro (estereoscópico)	1000-2000	Espécimes corados ou descorados; as bactérias, geralmente coradas, aparecem com a cor do corante	Características morfológicas grosseiras de bactérias, leveduras, algas, protozoários, esporos e fungos
Campo escuro	1000-2000	Geralmente descorados; aparecem brilhantes ou "iluminados" sobre um campo escuro	Microrganismos que exibem algumas características morfológicas especiais quando vivos e em suspensão fluida; por exemplo, os espiroquetas
Fluorescência	1000-2000	Luminoso e corado; cor do corante fluorescente	Técnicas de diagnóstico em que o corante fluorescente é fixado ao organismo ou a anticorpos (imunofluorescência) revela a sua identidade
Contraste de fase	1000-2000	Graus variáveis de iluminação	Exame de estruturas celulares em microrganismos maiores e vivos; por exemplo, leveduras, algas, protozoários e bactérias
Microscópios eletrônicos de alta resolução (> 0,003 μm)			
Varredura	20000	Tridimensional, amostra fixada desidratada e coberta com fina camada de metal pesado	Células intactas e tecidos
Transmissão	200000 - 400000	Fixação e coloração (Tetróxido de Osmium) Observação em tela fluorescente de seções extremamente finas	Exame de vírus e das ultra-estruturas das células microbianas
Crioelétrônico (resolução 0,35 nm)		Amostra congelada a -196°C observada no vácuo sem fixação ou corante	Macromoléculas, vírus, rRNA
Confocal a laser		Tridimensional	Organização do cromossoma e genes no núcleo. Sondas moleculares e.g. no solo

necessariamente, o mesmo *status* encontrado no solo. No entanto, contagens em meio de cultura são ferramenta útil em estudos comparativos ou para microrganismos específicos.

A avaliação de determinado organismo ou grupo em meio de cultura deve considerar seus requerimentos específicos nutricionais (e.g., tipo de metabolismo) e ambientais (e.g., temperatura, pH) assim como suas características funcionais. Por exemplo, auxotróficos necessitam de fatores de crescimento e organismos fototróficos não necessitam de fontes de C orgânico no meio, mas apenas macro e micronutrientes e luz. Os heterotróficos utilizam fontes orgânicas de carbono e têm requerimentos nutricionais específicos. Um dos métodos de caracterização de organismos emprega 96 fontes diferentes de carbono orgânico (Biolog) que são testadas separadamente para o crescimento de estirpes puras. O espectro de utilização, ou seja, as fontes de carbono entre as 96 que as estirpes utilizam, é característico de cada espécie, embora possa haver pequenas variações entre estirpes da mesma espécie. Nos meios de isolamento e contagem, geralmente emprega-se apenas uma fonte de carbono. Mais de uma fonte de carbono no meio de cultura pode proporcionar a detecção de maior número de espécies. Por exemplo, através da utilização de três fontes de carbono no mesmo meio foi possível isolar novas espécies (Magalhães, 1981). Há dois tipos de meio de cultura com relação à composição: os sintéticos, no qual todos os nutrientes são quimicamente definidos, e os complexos, que apresentam composição indefinida em virtude de compostos como extratos de levedura, de carne, de malte e de solo. Com relação à consistência estes podem ser líquidos, sólidos ou semi-sólidos (semilíquidos). As consistências semi-sólida ou sólida são obtidas pela adição de sílica gel ou ágar, respectivamente, 1,75 e 15 g L⁻¹. O ágar é um polissacarídeo (70% agarose, 30% agarpectina) extraído de algas vermelhas. Substâncias corantes podem ser adicionadas ao meio como indicadores de pH (e.g., azul de bromotimol, verde a pH 6,8, amarelo e azul em valores de pH, respectivamente, abaixo e acima) ou da presença de determinado(s) organismo(s) que as absorvem (e.g., vermelho-congo para *Agrobacterium*).

Inibidores que eliminem a competição de outros grupos com o grupo alvo estão principalmente na classe dos antibióticos. Outros exemplos são actidione (ciclo-hexamida – inibidor de fungos), rosa-bengala (fungistático que inibe o crescimento radial das colônias) e fenol (inibidor de bactérias).

Na **tabela 3.27** é mostrada a composição de alguns meios de cultura para diferentes grupos de microrganismos como bactérias, actinomicetos e fungos. Outras composições podem ser encontradas na literatura. Embora características fundamentais, como as especificadas acima, sejam as mesmas, ocorre grande variação na composição desses meios. Por isso, são recomendados testes prévios para ver o meio mais adequado para detectar com eficácia populações de determinado tipo de solo, podendo-se até mesmo criar novas composições de meio de cultura deles, adicionando-se características específicas do *habitat* em estudo que, por isso, poderá adequar melhor o meio para a população microbiana desse *habitat*.

Meios de cultura também são utilizados para seleção de organismos tolerantes a determinados estresses, ou sua avaliação em amostras. Para isso, o fator de estresse fará parte da composição do meio. Entre vários fatores, podem-se citar: antibióticos, metais pesados e acidez.

Do mesmo modo, grupos fisiológicos específicos como nitrificadores, fixadores de nitrogênio, solubilizadores de fosfato, entre outros, requerem que, em meio de cultura, ocorram condições para a expressão de tais características, para que possam ser detectados (**Tabela 3.28**). Por exemplo, fixadores de N₂ atmosférico dispensam em meio de cultura fontes combinadas de N, orgânicas ou inorgânicas, assim a ausência de N combinado no meio de cultura favorecerá o crescimento de espécies que fixem N₂ em

Tabela 3.27. Exemplos de composição de meios para cultivo de actinobactérias, fungos e bactérias (Extraído e modificado de Alef & Nanipieri, 1995).

	Meio	Ingredientes (em g L ⁻¹ de água destilada) e pH final
Actinobactérias	Ágar-amido	Amido solúvel 10,0; NaNO ₃ 1,0; K ₂ HPO ₄ 0,3; NaCl 0,5; MgSO ₄ .7H ₂ O 1,0; ágar 15,0; pH 7,0
	Ágar-SCN	Amido 10,0; caseína 0,3; KNO ₃ 2,0; NaCl 2,0; K ₂ HPO ₄ 2,0; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,05; traços de CaCl ₂ e FeSO ₄ .7H ₂ O; ágar 15,0; pH 7,2
	Ágar-RBME	Extrato de malte 20,0; K ₂ HPO ₄ 0,5; rosa-bengala 0,067; ágar 17,0-20,0, pH 6,0-6,2
Fungos	Martin	Glicose 10,0; peptona 5,0; K ₂ HPO ₄ 0,5; KH ₂ PO ₄ 0,5; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,5; rosa-bengala 0,03; estreptomicina 0,03; extrato de levedura 0,5; ágar 15,0; não alterar pH
	Ágar-ME	Extrato de malte 10,0; ágar 20,0-25,0; ajustar o pH para 5,5-5,6 com solução de ácido láctico 10%
	Ágar- Sabouraud	Glicose 20,0; peptona 10,0; ágar 17,0-20,0; ajustar o pH para 5,5-5,6 com solução de ácido láctico 10%
Bactérias	Ágar-PGY	Glicose 0,25; peptona 0,25; extrato de levedura 0,25; K ₂ HPO ₄ 0,1; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,05; FeSO ₄ .7H ₂ O 0,02; ágar 15,0; pH 7,0
	Ágar-PG	Glicose 0,1; peptona 1,0; K ₂ HPO ₄ 0,1; FeSO ₄ .7H ₂ O 0,02; ágar 15,0; pH 7,0
	Ágar-AlbGY	Glicose 0,1; albumina 0,25; extrato de levedura 0,05; K ₂ HPO ₄ 0,5; MgSO ₄ .7H ₂ O 0,4; traços de Fe(SO ₄) ₃ .7H ₂ O; ágar 15,0; pH 7,2

detrimento dos não fixadores. Ainda assim, algumas espécies denominadas “scavengers” podem também crescer no meio, porque são capazes de utilizar elementos (e.g., N) ou compostos que ocorram em quantidades muito pequenas como traços, mesmo em reagentes com alto grau de pureza que contenham outros compostos utilizados, sendo, portanto, necessários outros testes para confirmação da presença de fixadores (atividade da nitrogenase, observação ao microscópio da forma característica das células etc.). Bactérias fixadoras de N₂ que formam nódulos em plantas dispensam a necessidade da ausência de N combinado no meio, uma vez que dentro do nódulo já estão quase em populações puras. Assim, é necessário apenas uma eficiente desinfestação superficial para eliminar os organismos aderidos ao solo.

Uma vez crescidos nos meios de cultivo, espécies ou estirpes/cepas de organismos-alvo podem ser isolados em cultura pura, ou seja, separados de uma comunidade microbiana mista, por repicagens (transferências) sucessivas de colônias isoladas para meio de cultura em placa onde culturas puras poderão ser distinguidas por suas características fenotípicas (morfológicas, fisiológicas e bioquímicas) e genéticas específicas (**Tabela 3.29**) de acordo com o objetivo do estudo.

Quando se comparam diferentes organismos por características fenotípicas, os testes devem ser efetuados em condições rigorosamente padronizadas, uma vez que o fenótipo é resultante de fatores ambientais, influenciando a expressão do genótipo.

Tabela 3.28. Características seletivas dos meios de cultivo comumente usados para avaliação de alguns grupos funcionais de microrganismos.

Grupo de microrganismos	Característica(s) seletiva(s)	Características necessárias do meio*
- Fixadores de N ₂ de vida livre microaerofílicos e.g. <i>Azospirillum</i> spp. <i>Herbaspirillum</i> spp.	- Ausência de N na forma combinada - Utilizam N ₂ do ar - Consistência do meio: semi-sólida que permite gradiente de difusão de O ₂ . Bactérias se locomovem para pO ₂ adequada (aerotaxia) a atividade da nitrogenase	Composto orgânico, macro (exceto N) e micronutrientes, vitaminas para auxotróficos
- Amonificadores	- Aminoácido ou proteína (e.g. arginina)	- Macro e micronutrientes, condições aeróbicas
- Nitrificadores quimiolitotróficos	- Utilizam CO ₂ do ar - Ausência de luz (evitam crescimento de fotolitotróficos) - NH ₄ ⁺ (Para oxidantes de NH ₄ ⁺) - NO ₂ ⁻ (Para oxidantes de NO ₂ ⁻)	- Ausência de composto orgânico (fonte de C) - Macro e micronutrientes
- Anaeróbicos	- Remoção de O ₂ ** para alcançar Eh = -100 mV ⇒ agentes redutores: • cisteína (0,025%) -340 mV • Na ₂ S · 9 H ₂ O (0,025%) -223 mV • citrato de titânio (0,2 a 0,5 mM) -480 mV ⇒ por fluxo de outros gases (N ₂ , He, An)	- Específicos do grupo estudado
- Solubilizadores de fosfato	- Precipitado de fosfato insolúvel e.g. CaCl ₂ + K ₂ HPO ₄ ou AlCl ₃ + K ₂ HPO ₄ de cor leitosa ao meio agarizado, o crescimento do organismo forma halo transparente	- Composto orgânico, macro e micronutrientes
- Celulolíticos	- Papel de filtro (celulose) como única fonte de carbono	- Macro e micronutrientes

* Em todos os grupos a temperatura e o tempo de incubação, assim como o pH do meio devem ser ajustados de acordo com valores ótimos para crescimento da espécie ou grupo alvo

** Obs.: Indicadores de potencial redox: reazurin (0,0001-0,0003%), azul de metileno, fenostranina.

Tabela 3.29. Principais características fenotípicas e genéticas estudadas nos microrganismos.

Fenotípicas	Genéticas
<p>Morfológicas / Culturais</p> <ul style="list-style-type: none"> - Forma e tamanho da célula/organismo - Tipo e número de flagelos - Outras estruturas ou componentes celulares (e.g. esporos) - Inclusões citoplasmáticas (e.g. grânulos de poli-β-hidroxibutirato) - Modificação do pH do meio - Aspectos das colônias - Taxa de crescimento - Produção de pigmentos, polissacarídeos, antibióticos, etc. - Absorção de corantes <p>Fisiológicas / Bioquímicas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Utilização de fontes de carbono, nitrogênio e enxofre - Degradação/utilização de compostos orgânicos complexos - Tolerância a sais - Faixa de pH e temperatura para crescimento - Perfil de resistência/tolerância a antibióticos - Requisição de vitaminas e/ou outros fatores de crescimento - Vias metabólicas - Tipo de metabolismo - Padrão eletroforético de lipopolissacarídeos - Composição da parede celular/teste de Gram - Perfil eletroforético de proteínas totais - Perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME-Fatty Acid Methyl Ester) ou de ácidos graxos fosfolipídeos (PFLAs-Phospholip fatty acid composition) - Presença e atividade de enzimas (e.g. nitrogenase, nitrato redutase assimilatória e dissimilatória, hidrogenase, catalase, fosfatase, β-glicosidase, β-galactosidase) - Reações sorológicas, produção de anticorpos - Sensibilidade a fagos - Composição de exopolissacarídeos - Composição da membrana celular 	<ul style="list-style-type: none"> - Hibridização RNA-DNA (homologia) - Hibridização de fragmento de DNA alvo com sondas específicas - Hibridização DNA-DNA (homologia) - Seqüenciamento de bases total ou parcial de fragmentos do DNA que foram amplificados por PCR com primers (iniciadores) para genes específicos (e.g. 16 S rDNA, 23s rDNA, genes nif, nod, atpD, rpoB, recA, glnII) - Padrão eletroforético de enzimas multiloculares - Perfis de plasmídeos - Polimorfismo de padrões eletroforéticos de fragmentos de DNA amplificados (por reação em cadeia da polimerase-PCR-Polymerase Chain Reaction) com: <ul style="list-style-type: none"> a) Primers randômicos (RADP-Random Amplified Polymorphic DNA) b) Primers para identificação de seqüências Repetitivas de Elementos Palindrômicos extragênicos (REP- Repetitive Extragenic Palindromic), Unidades Repetidas Intergênicas (ERIC-Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) ou elementos BOX - Composição de bases do DNA (%C + G) - Eletroforese "Pulse field" (PFGE) de fragmentos de DNA gerados por endonucleases de restrição raras - Amplified Fragment Length Polymorphism (baseada no genoma completo) - Tipagem de fagos - RFLP (Restriction fragment length polymorphism-polimorfismo no comprimento de fragmentos) obtidos por restrição enzimática: Padrões eletroforéticos de fragmentos de DNA amplificados (PCR) e cortados com enzimas de restrição. Primers geralmente usados para amplificação de fragmentos de DNA específicos, como rDNA (genes rDNA que codificam para o rRNA 16S ou 23S ou do espaço intergênico entre estes).

Continua...

...Continuação

Fenotípicas	Genéticas
<p>Simióticas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tipo de infecção - Especificidade hospedeira - Efetividade no hospedeiro - Eficiência no hospedeiro <p>Patogênicas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Patogenicidade (espécie) - Virulência (isolado) 	<p>No caso do DNA ribossomal é também denominado ARDRA (Amplified Ribossomal DNA restriction analysis-análise de restrição do DNA ribossomal amplificado)</p>

Grande parte das características genéticas exige quantidades de DNA adequadas para sua análise, as quais são obtidas através da "reação em cadeia da polimerase" (Polimerase chain reaction-PCR) que é a amplificação *in vitro* de fragmentos específicos do DNA extraído, detectados com *primers* (iniciadores) de seqüência construída para se acoplarem a regiões alvo do DNA e dar início a tal amplificação (multiplicação) que é conduzida pela enzima *Taq*polimerase. Os passos da reação são: desnaturação (separação da fita dupla de DNA), anelamento do *primer* na região específica e síntese do DNA. Esse ciclo demora alguns minutos e é repetido várias vezes. Como é uma reação exponencial no final de 30-34 ciclos, uma quantidade significativa de DNA é obtida, pois o fragmento é multiplicado em milhões de cópias (**Figura 3.30**).

No caso dos procariotos, características genéticas são fundamentais para sua identificação quanto à espécie, sendo a principal delas o seqüenciamento de genes específicos. As seqüências obtidas podem ser comparadas a outras existentes em bancos de dados de livre acesso que possuem milhares de seqüências depositadas, as quais vêm aumentando exponencialmente dia-a-dia com novas adições. Podemos citar entre os Bancos de dados mais conhecidos: Genbank (National Center for Biotechnology Information (Bethesda, Maryland, EUA: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), European Bioinformatics Institute (EBI) (Cambridge, Inglaterra: <http://www.ebi.ac.uk>), e os projetos de bancos de dados ribossômicos (Ribossomal Database Projects) como o da University of Ghent (<http://www.psb.ugent.be/rRNA>) e da Michigan State University (EUA: <http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>).

Embora a classificação dos eucariotos ainda leve em consideração principalmente características morfológicas, informações genéticas estão aumentando dia a dia nos bancos de dados.

Uma limitação importante em estudos que pretendam desvendar a biodiversidade é a escassez de taxonomistas. No Brasil, o país com maior megadiversidade, apesar de existirem coleções importantes dos mais diversos grupos de organismos, o estudo da biodiversidade precisa ser estimulado, assim como a formação de recursos humanos, de modo que possamos conhecer em tempo hábil nossos recursos genéticos, antes que desapareçam (Moreira et al., 2006).

O seqüenciamento exige equipamento mais sofisticado, assim, outras técnicas podem permitir separar em grupos um grande número de estirpes, de modo que o seqüenciamento posterior seja aplicado somente a representantes de tais grupos. A **figura 3.31** mostra perfis de diferentes estirpes de bactérias obtidos com dois tipos de métodos, sendo um fenotípico (proteínas totais obtidas por eletroforese em gel de poliacrilamida) e outro genotípico (Rep-PCR) que apresentam alto poder de resolução, ou seja, permitem discriminar estirpes diferentes e agrupá-las de acordo com suas similaridades.

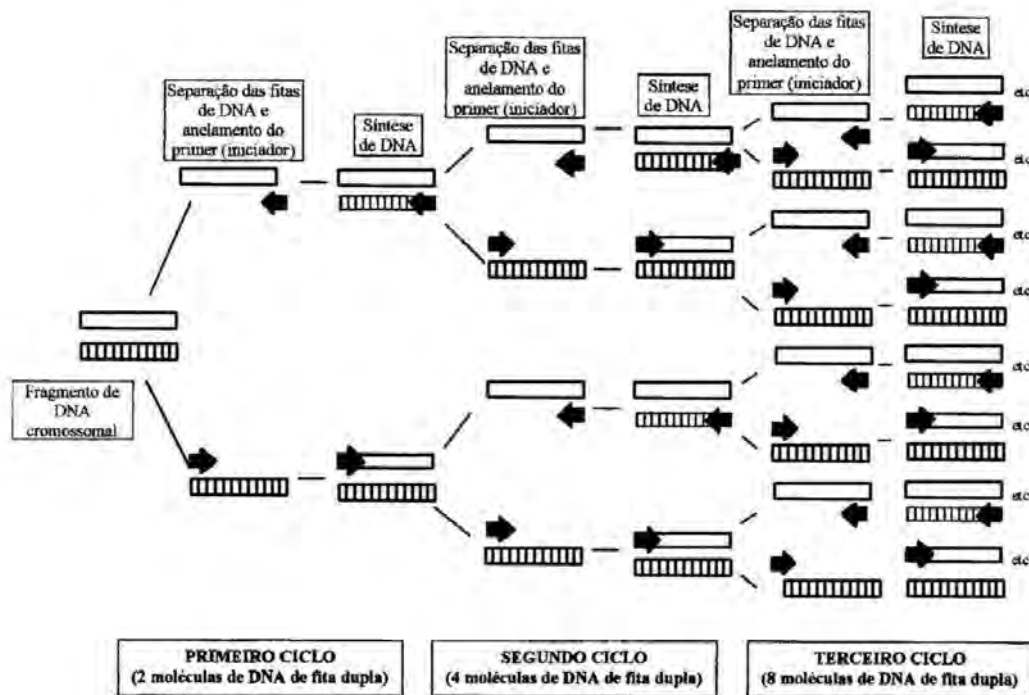


Figura 3.30. Reação em cadeia da polimerase para amplificação de DNA *in vitro* (PCR- Polimerase chain reaction) (Mullis et al., 1986.)

Métodos de contagem em meios de cultura

A contagem de microrganismos tem, como primeiro passo, a diluição sucessiva da amostra em água ou solução de sais estéreis (**Figura 3.32**). O fator de diluição pode variar de 2 até mais de 14, sendo geralmente usado o 10, como mostrado na figura 3.32. De cada diluição, ou de diluições selecionadas, quando se tem uma estimativa da densidade populacional da amostra, retiram-se alíquotas de volume conhecido (0,1; 1 mL etc.) para inoculação em meio de cultivo do organismo que pode ser líquido, semi-sólido ou sólido, geralmente com duas a cinco repetições por diluição. No caso dos dois primeiros meios, após o período de incubação para crescimento, que também varia entre espécies ou grupo, registram-se como positivas ou negativas as culturas que apresentaram ou não crescimento. Tabelas estatísticas são disponíveis de modo a fornecer o número mais provável (NMP) de organismos na amostra (**Tabela 3.30**). Nos meios sólidos, a contagem pode ser feita do mesmo modo ou diretamente contando o número de colônias na diluição que apresente entre 30 e 300 colônias, para bactérias, e 10 a 100 colônias, para fungos, e multiplicando esse número (a média das repetições) pelo fator da diluição, ou seja, se a contagem foi na diluição 10^{-4} , o número deve ser multiplicado por 10^4 , se 1 mL da suspensão foi inoculado no meio de cultivo. Caso o volume inoculado tenha sido menor, como por exemplo 0,1 mL, o número deve ser multiplicado por 10.

Geralmente, são feitas diluições até 10^{-9} para contagens por NMP e até 10^{-7} para contagens em

placa. Não é preciso fazer inoculação de todas as diluições; utilizam-se diluições menores para fungos do que para bactérias, em virtude da conhecida maior densidade das últimas. Nas actinobactérias geralmente encontram-se densidades menores que 10^4 .

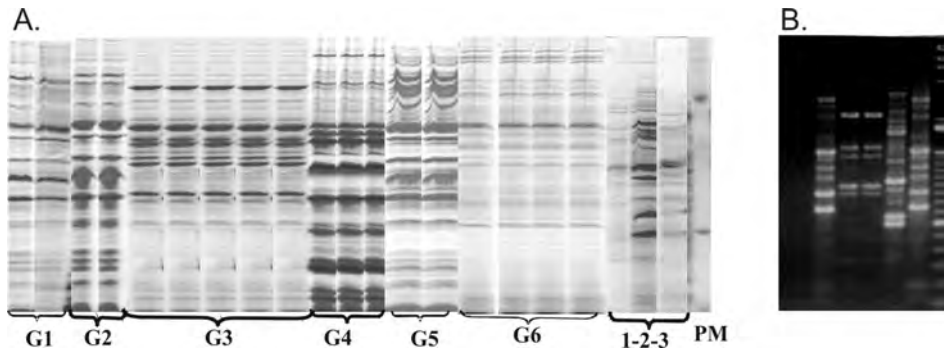


Figura 3.31. A: Perfis de proteína total obtidos por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de grupos (G) e estirpes de *Bradyrhizobium* spp. isoladas de solos sob diferentes sistemas de uso da terra da Amazônia e comparadas a estirpes conhecidas e ao padrão de peso molecular conhecido (PM). O grupo 6 inclui a estirpe BR 29 de *B.elkanii*, recomendada como inoculante para a soja. Os perfis 1,2 e 3 correspondem, respectivamente, a INPA 3-11B e UFLA 3-84, recomendadas como inoculante para feijão caupi, e ATCC10234^T, estirpe tipo de *B.japonicum* (Lima et al., 2005). B: Padrões eletroforéticos de seqüências repetitivas de elementos palindrômicos (REP), em estirpes de bactérias que nodulam leguminosas, amplificadas por PCR.

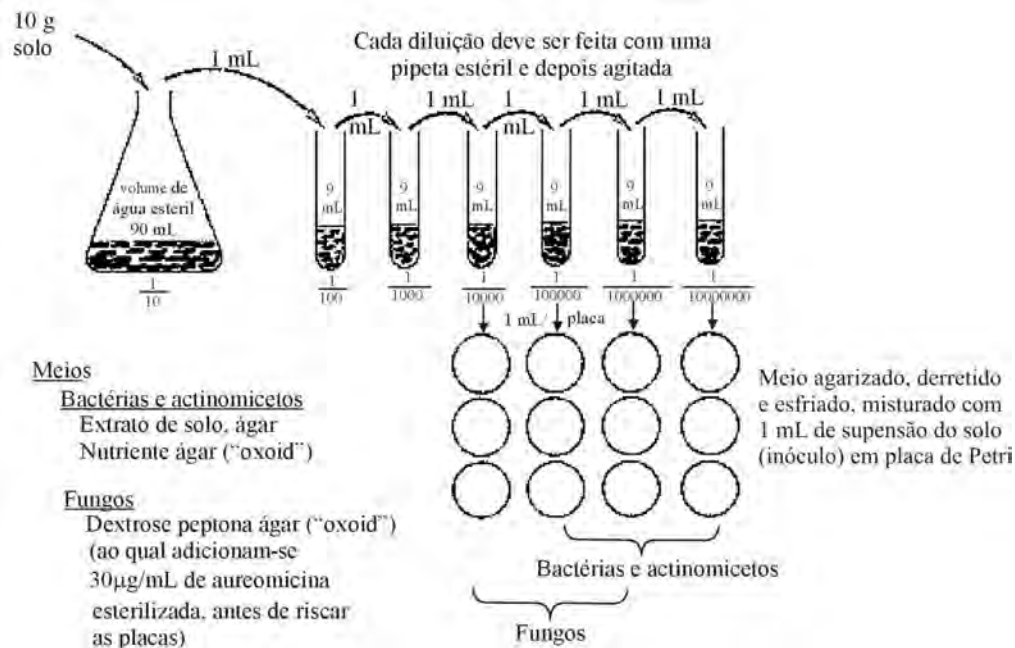


Figura 3.32. Método das diluições sucessivas (taxa de diluição 1:10) com três repetições para contagem de fungos e bactérias em meios específicos.

Tabela 3.30. Tabela de Cochran (1950) para cálculo do número mais provável de microrganismos em diluições decimais com 5 repetições.

p_1	p_2	Número mais provável indicado pelo valor de p_3					
		0	1	2	3	4	5
0	0	-	0,018	0,036	0,054	0,072	0,090
0	1	0,018	0,036	0,055	0,073	0,091	0,11
0	2	0,037	0,055	0,074	0,092	0,11	0,13
0	3	0,056	0,074	0,093	0,11	0,13	0,15
0	4	0,075	0,094	0,11	0,13	0,15	0,17
0	5	0,094	0,11	0,13	0,15	0,17	0,19
1	0	0,020	0,040	0,060	0,080	0,10	0,12
1	1	0,040	0,061	0,081	0,10	0,12	0,14
1	2	0,061	0,082	0,10	0,12	0,15	0,17
1	3	0,083	0,10	0,13	0,15	0,17	0,19
1	4	0,11	0,13	0,15	0,17	0,19	0,22
1	5	0,13	0,15	0,17	0,19	0,22	0,24
2	0	0,045	0,068	0,091	0,12	0,14	0,16
2	1	0,068	0,092	0,12	0,14	0,17	0,19
2	2	0,093	0,12	0,14	0,17	0,19	0,22
2	3	0,12	0,14	0,17	0,20	0,22	0,25
2	4	0,15	0,17	0,20	0,23	0,25	0,28
2	5	0,17	0,20	0,23	0,26	0,29	0,32
3	0	0,078	0,11	0,13	0,16	0,20	0,23
3	1	0,11	0,14	0,17	0,20	0,23	0,27
3	2	0,14	0,17	0,20	0,24	0,27	0,31
3	3	0,17	0,21	0,24	0,28	0,31	0,35
3	4	0,21	0,24	0,28	0,32	0,36	0,40
3	5	0,25	0,29	0,32	0,37	0,41	0,45
4	0	0,13	0,17	0,21	0,25	0,30	0,36
4	1	0,17	0,21	0,26	0,31	0,36	0,42
4	2	0,22	0,26	0,32	0,38	0,44	0,50
4	3	0,27	0,33	0,39	0,45	0,52	0,59
4	4	0,34	0,40	0,47	0,54	0,62	0,69
4	5	0,41	0,48	0,56	0,64	0,72	0,81
5	0	0,23	0,31	0,43	0,58	0,76	0,95
5	1	0,33	0,46	0,64	0,84	1,1	1,3
5	2	0,49	0,70	0,95	1,2	1,5	1,8
5	3	0,79	1,1	1,4	1,8	2,1	2,5
5	4	1,3	1,7	2,2	2,8	3,5	4,3
5	5	2,4	3,5	5,4	9,2	16	-

Onde p_1 número de tubos positivos na diluição menos concentrada com maior número de tubos positivos ou com todos os tubos positivos. p_2 e p_3 número de tubos positivos nas diluições posteriores a p_1 . O número da tabela deve ser multiplicado por 10 elevado ao número (positivo) da diluição de p_3 .

3.7.1.3.2. Biomassa microbiana

A biomassa microbiana (BM) do solo é definida como a parte da matéria orgânica constituída pelos organismos vivos com volume menor que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ e engloba, principalmente organismos de Archaea, Bacteria, Fungi e Protoctista mas também alguns do Reino Animalia, como os nematóides. A BM é geralmente expressa como micrograma (μg) de carbono por grama de solo seco, sendo avaliada por diversos métodos, que incluem a microscopia.

Nesta, utilizam-se lâminas reticuladas, onde é colocado volume de solo conhecido. Para converter o biovolume em biomassa, é necessário conhecer a densidade, a matéria seca e o teor de C da célula que variam com a espécie, assim como com a fase de crescimento (Jenkinson & Ladd, 1981). Nesse método, bastante laborioso, um número elevado de amostras e campos microscópicos precisa ser analisado. Além disso, células viáveis podem ser confundidas com células mortas, porém o problema pode ser solucionado através do uso de corantes vitais.

Os principais métodos empregados, atualmente, para avaliação da biomassa microbiana (BM) são da fumigação-incubação e fumigação-extração. Nos dois métodos, é necessário remover do solo resíduos de fauna e de raízes (biomassa não microbiana). Manualmente, retiram-se os resíduos grosseiros visíveis e depois, por peneiramento, em malha de 4-6 mm. Em seguida, ajusta-se a umidade das amostras para 60% (mais ou menos, dependendo do tipo de solo) da capacidade de campo.

Fumigação-incubação (Jenkinson et al, 1976)

Esse método baseia-se nas seguintes premissas (Jenkinson & Ladd, 1981)

- a) a fumigação do solo mata a BM e não afeta a matéria orgânica morta;
- b) o número de organismos mortos na amostra não fumigada é negligível comparado àquele da amostra fumigada;
- c) a fração de carbono mineralizado da BM morta em determinado período de tempo não difere em solos diferentes.

O método tem por princípio a exposição do solo a clorofórmio (livre de etanol) por 24 horas. Após esse procedimento o fumigante é removido por evacuações sucessivas em bomba de vácuo e reinoculado com pequena amostra de solo. Amostras de solo fumigadas e não fumigadas são incubadas a 25°C por 10 dias com 50% da capacidade de campo, em frascos separados contendo uma base (NaOH ou KOH 1 M) que vai capturar o CO_2 resultante da respiração decorrente do crescimento dos organismos inoculados, usando como substrato os organismos mortos pela fumigação (**Figura 3.33**).

O cálculo da BM é feito pela seguinte fórmula:

$$BM = \frac{F - NF}{Kc}$$

em que:

F e NF são o total de CO_2 liberado, respectivamente, da amostra fumigada e da não fumigada. K_c é a constante que representa a proporção do carbono da BM que foi convertido a CO_2 . Restrições ao uso desse método são para solos com pH menor que 4,5, solos que contenham fontes de carbono facilmente degradáveis ou aqueles que receberam adições recentes de substratos orgânicos frescos. Nesses casos, o mais recomendado é o método apresentado a seguir. Em outros, os valores obtidos pelos dois métodos apresentam correlação significativa entre si e com os teores de carbono e nitrogênio totais do solo (Gama-Rodrigues et al., 1994).

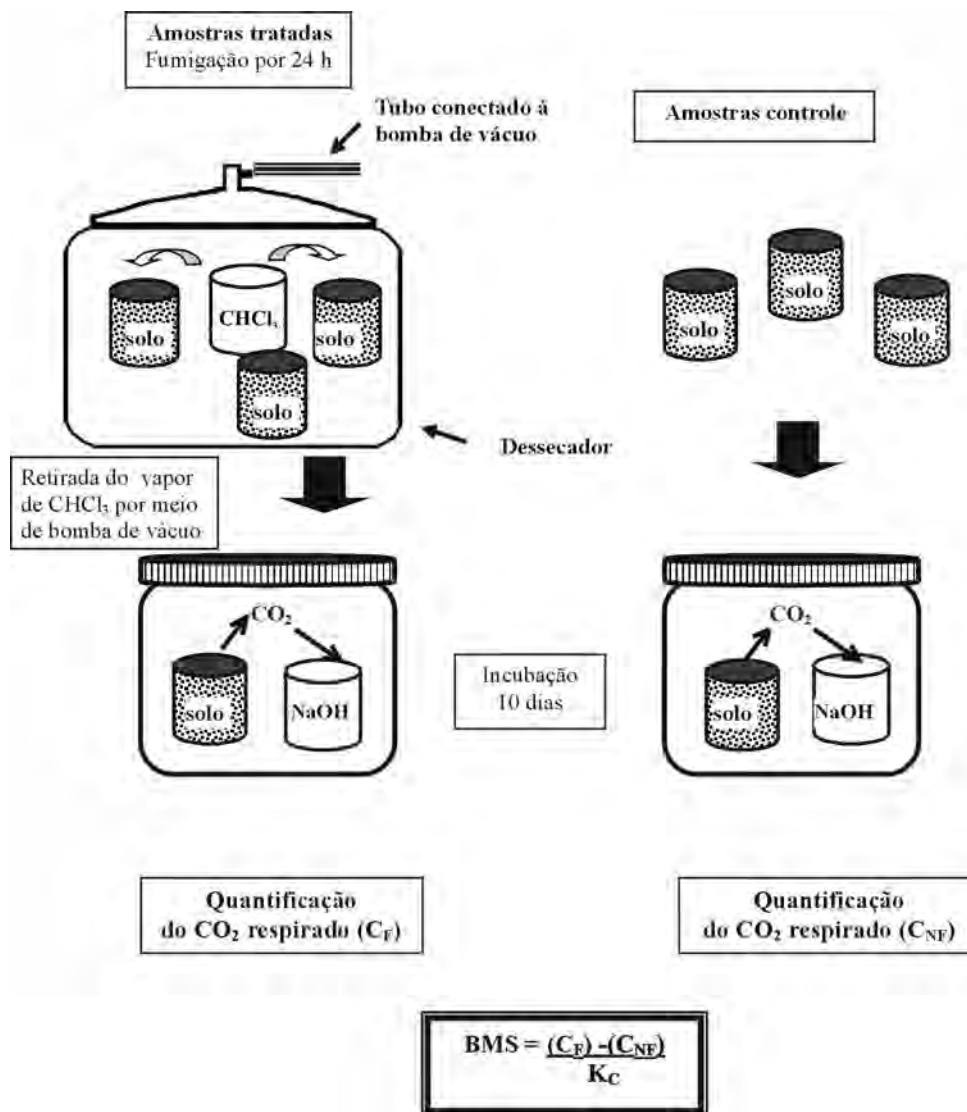


Figura 3.33. Quantificação da biomassa microbiana do solo (BMS) pelo método da fumigação-incubação.

Fumigação-extração (Vance et al, 1987)

Nesse método, as amostras não são incubadas, e, o carbono liberado pela morte dos microrganismos pelo clorofórmio, é determinado por extração (K_2SO_4), oxidação e digestão química, seguidas de titulação (**Figura 3.34**).

A BM é calculada pela fórmula:

$$BM = \frac{C_F - C_{NF}}{K_{EC}}$$

em que C_F e C_{NF} representam o carbono extraído dos solos fumigado e não fumigado e K_{EC} é a proporção total de C microbiano extraído após fumigação, que para solos ácidos tropicais pode ser de 0,30 (Feigl et al., 1995).

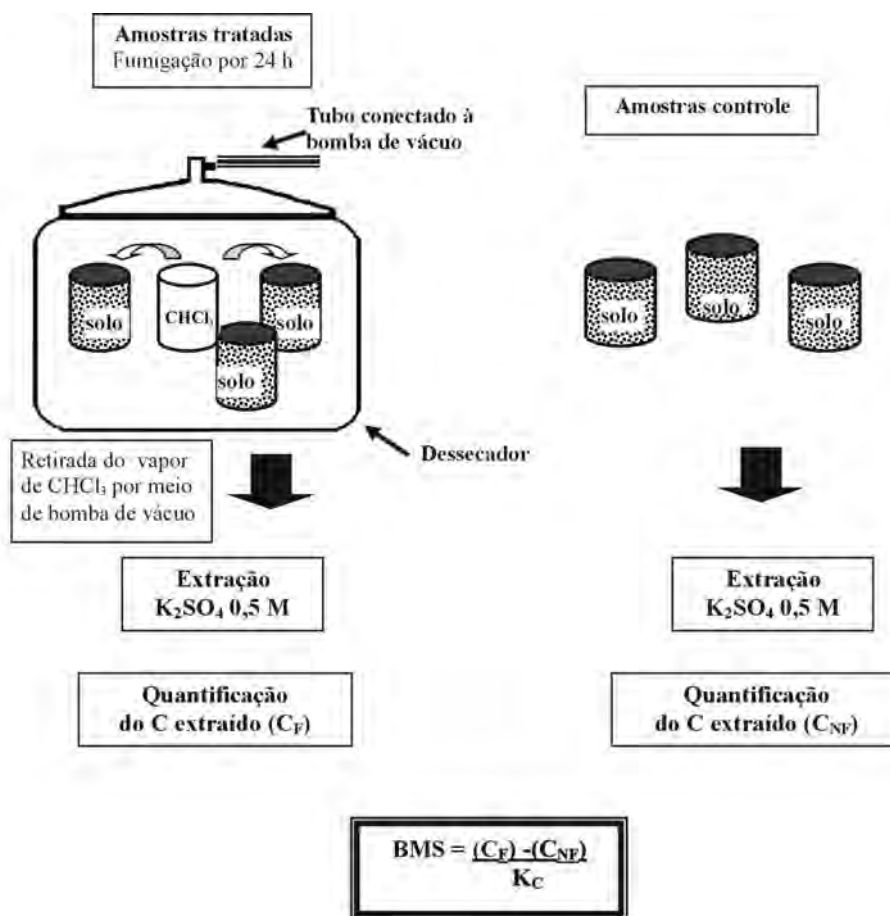


Figura 3.34. Quantificação da biomassa microbiana do solo (BMS) pelo método da fumigação-extração.

O nitrogênio e o fósforo da BM podem também ser determinados por outros métodos (Brookes et al., 1982 e 1985).

A relação entre o carbono da BM e o total do solo é um bom indicador que representa a fração de C lábil do solo; geralmente, tal relação está entre 1 e 4 %, mas valores diferentes podem ser obtidos.

3.7.1.3.3. Biomarcadores ou “moléculas-assinatura”

Biomarcadores, também chamados “moléculas-assinatura”, são componentes químicos das células microbianas e de seus produtos extracelulares. Os métodos de estimativa da densidade e diversidade microbiana, baseados na quantificação de biomarcadores, não requerem crescimento nem remoção das células de seus ambientes naturais (Alef & Nannipieri, 1995). Exemplos de moléculas marcadoras são:

a) ergosterol é o principal esteroide de Ascomycetos, Basidiomycetos e fungos imperfeitos localizados principalmente na membrana;

b) ácidos murâmicos e diaminopiméricos são componentes da camada de peptidoglicano da parede de células procarióticas, assim como ácidos graxos lipopolissacarídeos e ácidos teicóicos são componentes, respectivamente, de bactérias gram-negativas e gram-positivas. Glicosamina é componente estrutural de peptidoglicano (parede de procariotos) e de quitina (parede de fungos e exoesqueleto de invertebrados).

O *status* nutricional da comunidade microbiana pode ser monitorado através das propriedades de compostos de armazenamento específicos como o glicerol triglicérido, ácidos graxos fosfolípidos ou poli β - hidroxialcanoato, sendo, o último, indicador de deficiência nutricional quando se acumula na célula.

Para estudar componentes individuais da população é necessário inibir, seletivamente, a atividade metabólica de outros grupos como mencionado.

De modo geral, os biomarcadores são extraídos do solo por métodos específicos, que presumem 100% de eficiência de extração, e analisados por diferentes técnicas que requerem equipamentos sofisticados como: cromatografia líquida de alta eficiência (ergosterol, ácido murâmico), cromatografia gasosa (ácido teicóico), cromatografia gasosa/espectrometria de massa (ácido teicóico, ácidos graxos lipopolissacarídeos/LPS, ácidos graxos fosfolípidos), espectrofotômetro/cromatografia de papel (ácido diaminopimérico, glicosamina).

Ácidos nucleicos (DNA, RNA) também podem ser considerados biomarcadores. Devido à sua importância são abordados destacadamente.

3.7.1.3.4. Isolamento e identificação de DNA do solo

O primeiro passo crucial para análise do DNA é sua extração em quantidade e pureza adequadas para permitir identificação da origem genética. Existem duas técnicas diferentes para isolamento: extração de células e lise direta. No primeiro, a extração das células precede a extração do DNA, no

segundo, DNA é extraído diretamente do solo. Vários métodos têm sido propostos para isolamento de DNA do solo (Saano & Lindström, 1995). A extração direta do DNA do solo envolve: lise das células, separação do DNA de outros componentes celulares, tais como polissacarídeos e proteínas, liberação do DNA das partículas do solo, purificação do DNA extraído (eliminação dos constituintes do solo) e precipitação do DNA. No mercado são disponíveis vários kits para extração de DNA do solo (também podem ser usados para culturas puras de microrganismos) de maneira mais rápida e simples. No entanto por seu custo elevado, a relação custo/benefício deve ser considerada. Além disso, muitas vezes os componentes do kit não são especificados.

A caracterização do DNA extraído pode ser feita por diversas técnicas simples ou combinadas:

a) hibridização DNA-DNA: emparelhamento com sondas de DNA conhecido radioativo ou não para verificação do grau de homologia (similaridade ou identidade de seqüências) ou detecção de seqüências de DNA específicas. Pode ser feita por "DOT blotting" ou "Southern blotting" (técnica de Southern), sendo o último uma combinação de eletroforese do DNA com hibridização;

b) polimorfismo em comprimento de fragmentos obtidos por restrição ("Restriction fragment length polymorphism") enzimática: fragmento específico do DNA extraído é amplificado por PCR, cortado com enzimas de restrição e, os pedaços resultantes, submetidos a eletroforese para detecção da variabilidade de seu peso molecular. Pode ser combinado com hibridização para avaliação de seqüências específicas e permitir identificação de organismos com padrão de restrição conhecido.

O DNA extraído do solo pode ser analisado por outras técnicas, como o DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) e o TGGE (temperature gradient gel electrophoresis). Em ambas, o DNA é extraído de amostras de solo com comunidades mistas e fragmentos de DNA específicos (e.g. 16S rDNA) são amplificados por PCR. Posteriormente, fragmentos de mesmo comprimento mas com seqüências de nucleotídeos diferentes são separados de acordo com suas propriedades (que influem na desnaturação e essa, conseqüentemente, na mobilidade eletroforética), através da eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo um gradiente linear de agente desnaturante ou de temperatura, do qual resultará um perfil de bandas que refletirá a composição da comunidade. Outra técnica para análise de DNA de comunidades extraído do solo é o T-RFLP, uma variação do RFLP já mencionado. Essa técnica acopla PCR e filogenia baseada no rRNA para identificação de comunidades microbianas, incluindo organismos não cultiváveis. Os rDNAs são obtidos por amplificação (PCR) utilizando *primers* universais, sendo um deles marcado com corante fluorescentes, e os produtos digeridos com enzimas com sítios de restrição reconhecidos. De modo que, no seqüenciamento computadorizado, os tamanhos dos fragmentos cortados e marcados ("fragmento de restrição-T" ou ribotipo) podem ser determinados e quantificados. Os grupos filogenéticos correspondentes a esses fragmentos são identificados através de bancos de dados. Outros métodos que vem sendo utilizados para estudo da diversidade microbiana incluem: Single strand conformational polymorphism (polimorfismo conformacional de fita única), Real-time - PCR (PCR em tempo real), microarrays (microarranjos) e "gene libraries" (bibliotecas genômicas). Nos microarranjos, a expressão de cerca de 4.000 fragmentos gênicos individuais, distribuídos como pequenas manchas, em uma placa são testados

para um organismo. As bibliotecas genômicas são uma coleção de fragmentos de DNA (obtidos por fragmentação do genoma completo) clonados e que, em conjunto, representam o genoma completo de um dado organismo, permitindo o estudo de genes individuais.

A técnica de microarranjos de DNA (DNA microarrays) pode ser usada para avaliar o genoma completo de um único organismo, tanto para a expressão gênica, como para a descoberta de novos genes. Esta técnica também tem sido aplicada para identificação de função ecológica e afiliação genética de comunidades microbianas (Murray et al., 2001; Dong et al., 2001).

3.7.2. Atividade biológica

A atividade biológica pode ser definida como toda reação bioquímica catalisada pelos organismos do solo, podendo resultar, também, em atividade física, como no caso do efeito da excreção de polissacarídeos na agregação do solo. Nesse tópico, será abordada principalmente a atividade microbiana, uma vez que os processos mediados por microrganismos são bem mais diversos que os mediados pelos organismos macroscópicos. No caso de atividades similares (e.g., respiração, produção de calor) na preparação das amostras, devem-se separar raízes e macrofauna para evitar superestimativas em vista da contribuição desses organismos. Se o objetivo for medir a atividade total, estes não devem ser separados. É também pressuposto que a atividade reflita o estado fisiológico de células ativas e intactas.

As atividades microbianas podem ser divididas em dois tipos: as gerais e as específicas. As gerais são aquelas provenientes de todos ou quase todos os microrganismos do solo, como a respiração e a produção de calor, apresentando, portanto, valor significativo como índice de atividade total do solo. As específicas são mediadas por grupos específicos como os fixadores de nitrogênio, desnitrificadores, amonificadores, nitrificadores e metanogênicos, entre outros. Ambos os tipos podem ser medidos “*ex situ*” ou “*in situ*”. As atividades “*in situ*” são feitas diretamente no campo, sob condições naturais, em amostras não perturbadas que podem ser obtidas, por exemplo, enterrando no solo, à profundidade determinada, anéis de metal ou câmaras fechadas na parte superior e abertas na inferior. São avaliados os produtos dessas atividades (e.g., amonificação:amônio; nitrificação:nitrato) ou o desaparecimento dos substratos que estão sendo convertidos.

3.7.2.1. Respiração

É um dos mais antigos parâmetros para quantificar a atividade microbiana. Representa a oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbios do solo, que, portanto utilizam O_2 como acceptor final de elétrons, até CO_2 . Assim, pode ser avaliada tanto pelo consumo de O_2 como pela produção de CO_2 . A determinação de O_2 pode ser feita por cromatografia gasosa ou eletrorespirômetro e, a de CO_2 , por titulação ou condutividade elétrica (quando é capturado por NaOH ou KOH), cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho (IRGA) ou por ^{14}C ; neste caso, quando se deseja monitorar compostos orgânicos específicos. Pode-se medir a respiração basal da amostra (com a matéria orgânica preexistente) ou com indução por substrato, adicionando-se uma fonte orgânica específica, e.g., glicose.

O cálculo da respiração pelo método de titulação com captura de CO₂ por NaOH é o seguinte:

$$\text{CO}_2 \text{ (mg)/Ss/t} = \frac{(V_0 - V) \times 1,1}{P_s}$$

em que:

Ss = quantidade de solo seco da amostra;

t = tempo de incubação (horas);

V₀ = volume de HCl usado para titulação da testemunha sem amostra (ml);

V = volume de HCl usado para titulação da amostra de solo;

P_s = peso seco de 1 grama de solo úmido;

1,1 = fator de conversão (1 mL 0,05 M NaOH = 1,1 mg CO₂)

A partir dos dados de respiração (produção de CO₂ em µg CO₂·g⁻¹ solo seco·h⁻¹) e biomassa microbiana pode-se calcular o quociente metabólico *q*CO₂, índice muito utilizado em ecologia microbiana, que representa a quantidade de C-CO₂ evoluída por unidade de C microbiano (µg C-CO₂·g⁻¹·mg de C-biomassa·h⁻¹). Diversos trabalhos têm demonstrado que esse índice pode contribuir para avaliação da qualidade dos solos, pois indica o nível de estresse da biomassa. A BM sob estresse (e.g., concentrações elevadas de metais pesados) apresentará quocientes metabólicos mais altos, indicando maior consumo de energia. No entanto, os valores devem ser comparados no mesmo tipo de solo, uma vez que outros fatores, além do de estresse podem influenciar a BM.

3.7.2.2. ATP

O ATP é o mais importante agente acoplado processos exergônicos, que liberam energia, e endergônicos, que consomem energia, nas células. Por isso, é encontrado em todas as células vivas. Nas mortas, é rapidamente degradado. Sua determinação é feita após extração por vários métodos (ácido tricloroacético, solução de fosfato, ácido sulfúrico e fosfórico) e análise em CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) ou por teste de bioluminescência através de reação com D-luciferina catalisada pela luciferase. Esta última é altamente sensível detectando concentrações de ATP muito menores que 10⁻¹¹ M. Como outros métodos, que envolvem extração do solo de substâncias que ocorrem em baixas concentrações, tem limitações relacionadas ao tipo de extrator, inativação de ATPases, absorção de ATP pelos colóides do solo e complexação com vários elementos. Pode também ser superestimado devido à extração de células não microbianas.

3.7.2.3. Produção de calor

A atividade metabólica do solo pode ser determinada usando-se um microcalorímetro que detecta mudanças de até 10⁻⁶ °C (medidos em microwatts) em relação a uma amostra esterilizada usada como referência.

3.7.2.4. Atividades enzimáticas

Várias atividades enzimáticas microbianas podem ser medidas no solo *in situ* ou *ex-situ*. Estes métodos sempre envolvem a incubação do solo em condições adequadas de temperatura e umidade para que a atividade possa ocorrer. Em alguns casos, podem ser induzidas pela adição de substratos que favoreçam a reação. Os produtos dessas reações podem ser analisados por vários métodos, dependendo da sua natureza química. Na maioria dos casos, o grupo fisiológico de microrganismos responsáveis pela atividade é composto de várias espécies pertencentes a diferentes grupos filogenéticos (capítulo 2). Assim, devem-se usar condições ambientais seletivas para a população - alvo. Destacamos duas enzimas a seguir para ilustrar como se mede a atividade enzimática. Outras muito estudadas são: urease, fosfatases β -glicosidase, protease e celulase.

Desidrogenase - Como mencionado, a desidrogenase só ocorre em células vivas (ver 3.4.1.2). Seu método de determinação é através da taxa de redução do TTC (trifeniltetrazolium chloride), acceptor artificial de elétrons de várias desidrogenases, para TPF (trifenil formazan), estimado colorimetricamente em solos após incubação a 30°C por 24 horas. Outro método é mediante a redução de INT (2p-iodofenil-3-pnitrofenil-5-feniltetrazolium chloride) para INF (iodonitrotetrazolium chloride), em solo incubado por duas horas a 40°C, também estimado colorimetricamente.

Nitrogenase - É a enzima responsável pela fixação biológica de N_2 , sendo encontrada apenas em algumas espécies de procariotos (maiores detalhes são encontrados no capítulo 9). É extremamente versátil, pois catalisa outras reações, incluindo a de redução do acetileno para etileno, muito utilizada em estudos dos diazotróficos. O princípio desse método é a quantificação do etileno formado durante a incubação de amostras de solo ou de raízes noduladas ou não, com acetileno dentro de recipientes hermeticamente fechados a temperaturas entre 20 e 30°C e capacidade de campo, quando pertinente, a 60%. O etileno produzido é avaliado por cromatografia gasosa após um tempo determinado. Para medidas *in situ*, quando é impossível o transporte do cilindro de acetileno, este pode ser produzido a partir da reação de carbureto e água em um Kitasato conectado a um balão inflável. A contribuição da fixação biológica do nitrogênio em plantas (atividade da nitrogenase por microrganismos durante o ciclo da cultura) também pode ser avaliada através de vários métodos isotópicos que se baseiam na incorporação do ^{15}N (Weaver & Danso, 1994).

3.8. Qualidade do solo

Existem várias definições para o que seja a qualidade do solo. Uma das mais citadas é a de Doran & Parkin (1994): "Qualidade do solo é a capacidade de um solo de funcionar nos limites do ecossistema, para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde vegetal e animal". A avaliação da qualidade do solo compreende características físicas, químicas e biológicas. Índices de qualidade do solo têm sido propostos (revisados por Tótola & Chaer, 2002), baseados em

160 Capítulo 3 · Ecologia do Solo

modelos matemáticos que combinam medidas de diferentes características indicadoras de qualidade, às quais, geralmente, se atribuem pesos de acordo com sua importância. Os índices de qualidade pretendem elucidar a inter-relação entre características reconhecidamente importantes e a qualidade do solo associada à produção vegetal sustentada, qualidade ambiental e saúde humana e animal. Em outra abordagem, as características podem ser comparadas às de ecossistemas naturais estáveis, como florestas. Características que têm sido utilizadas são: pH; CTC; matéria orgânica; disponibilidade de nutrientes; densidade e profundidade do solo; aeração, ausência de toxicidade; ciclagem eficiente; infiltração e disponibilidade de água; estabilidade de agregados e também características biológicas como biomassa microbiana; enzimas; diversidade, densidade e atividade de grupos funcionais chave de organismos. Todavia, tanto índices como características considerados até o momento como indicadoras, ainda não abrangem e desvendam a complexidade do sistema edáfico, de modo a atender plenamente a definição de Doran & Parkin (1994) para a maioria dos solos e ecossistemas.

Nos capítulos 2 e 3, foram apresentadas: diversidade, densidade e funções dos componentes bióticos do solo, assim como fatores ambientais que afetam os organismos e características do solo como *habitat* que possibilitaram entender como a complexa rede de interações entre os diversos componentes do solo dificulta atingir o objetivo acima. Os princípios dos métodos de estudo de várias características importantes foram apresentados de modo a facilitar a compreensão de sua aplicabilidade e utilidade. Nos próximos capítulos, os processos importantes mediados pelos organismos do solo serão apresentados tanto ao nível de, ecossistemas como ao global. Embora os índices de qualidade do solo ainda não sejam plenamente elucidativos, verificar-se-á que em muitos casos, a Ciência do Solo avançou significativamente no entendimento de vários processos biológicos importantes para a sustentabilidade agrícola e para a qualidade ambiental.

BIBLIOGRAFIA

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.) **Methods in applied microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. 576p.

ANDERSON, J.M.; INGRAM, J.S. I. (Ed.). **Tropical soil biology and fertility: a handbook of methods**. 2.ed. Wallingford: CAB International, 1993. 221p.

HATTORI, T.; HATTORI, R. The physical environment in soil microbiology: an attempt to extend principles of microbiology to soil microorganisms. **Critical Reviews in Plant Microbiology**, p.423-461, May 1976.

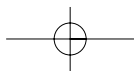
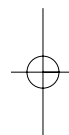
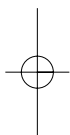
MADSEN, E.L. A critical analysis of methods for determining the composition and biogeochemical activities of soil microbial in situ. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p.287-370.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil Biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CAB International, 2006. 280p.

ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1986, 434 p.

STOTZKY, G. Activity, ecology and population dynamics of soil microorganisms. (Ed.). **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v. 1, p.59-137, 1972.

WEAVER, R.W.; ANGLE, J.S.; BOTTOMLEY, P.S. (Ed.). **Methods of soil analysis, Part 2- Microbiological and Biochemical Properties**. Madison: ASA/SSSA, 1994. 1121p. (SSSA Book Series, 5).



Capítulo 4

Metabolismo e Processos Microbianos

4.1. Os processos microbianos e a manutenção dos ecossistemas

Os inúmeros organismos que se multiplicam e habitam o solo são responsáveis, direta ou indiretamente, por processos bioquímicos diversos que controlam as transformações dos elementos químicos e as transferências de energia e nutrientes no sistema solo-planta-atmosfera, constituindo a base de sustentação e produtividade dos ecossistemas terrestres. Processos são aqui definidos como uma seqüência de reações através das quais se realizam transformações da matéria. No solo, ocorrem inúmeros processos com alto grau de complexidade, sendo os mais importantes os bioquímicos, resultantes principalmente da atividade dos organismos microscópicos que crescem nesse ambiente, apresentados na **tabela 4.1**, e suas inter-relações e funções para a sanidade vegetal e qualidade do solo e do meio ambiente representadas na **figura 4.1**.

A vida no planeta é sustentada basicamente por dois processos principais opostos: a fotossíntese, realizada pelos autotróficos (produtores primários), e a decomposição seguida da mineralização dos materiais orgânicos por ela formados, feita pelos heterotróficos. A fotossíntese é realizada principalmente pela ribulose biscofosfato carboxilase oxidase (rubisco), a chamada enzima da vida. A rubisco absorve a energia solar e faz a redução do CO₂ atmosférico nas plantas, formando compostos orgânicos diversos essenciais à constituição e à vida delas e dos seres vivos (heterotróficos) incapazes de realizar tal processo (**Figura 4.2**). Os dois processos opostos são integrados pela produção de compostos intermediários, precursores para a síntese de moléculas essenciais como as proteínas e ácidos nucleicos (**Figura 4.3**). Os organismos fotossintetizantes formam as bases da cadeia trófica geral no sistema solo-planta-organismos, atuando como produtores primários que sustentam os simbiotróficos e herbívoros, sendo que estes sustentam os carnívoros. Por isso, a fotossíntese tem função essencialmente importante para a vida no planeta. Diretamente pela morte das plantas ou de suas partes ou indiretamente após seu consumo pelos animais ou pelo homem, os materiais orgânicos (necromassa = matéria morta) ou produtos de sua transformação são depositados no solo. A serapilheira nos ecossistemas naturais, os restos culturais ou resteva nos agrossistemas e, ainda, a deposição de rejeitos diversos ao serem incorporados ao solo, constituem a matéria orgânica do solo (MOS), que é transformada, permanecendo parte em forma de carbono orgânico vivo (biomassa) ou morto no solo. No sistema solo-planta, também ocorre a translocação, via floema, de fotoassimilados para as raízes, que são órgãos heterotróficos e, portanto, também consumidores de C-fotoassimilado.

Tabela 4.1. Resumo dos principais processos bioquímicos no solo e respectivos aspectos mais relevantes (Modificado de Siqueira & Franco, 1988).

Processos bioquímicos	Aspectos mais relevantes
- Decomposição de materiais orgânicos.	<ul style="list-style-type: none"> • Evita seu acúmulo na superfície e no solo; • Libera CO₂ para a atmosfera e nutrientes para as plantas; • Garante o fluxo de energia e nutrientes no sistema solo-planta; • É a principal via de perda de C do solo (fonte); • Pode contribuir para a eutroficação das águas, anoxia no solo e efeito estufa; • Promove a produção de microbiomassa do solo e a formação de húmus (seqüestra carbono no solo).
- Mineralização de compostos orgânicos.	<ul style="list-style-type: none"> • Controla a disponibilidade para as plantas e fluxo de nutrientes no planeta (ciclagem); • Pode contribuir para a poluição da atmosfera e de mananciais hídricos; • Pode contribuir para o empobrecimento e a degradação do solo;
- Transformações inorgânicas de N e S (amonificação, nitrificação, desnitrificação, oxidação do S e redução do SO ₄ ²⁻).	<ul style="list-style-type: none"> • Controlam a permanência desses elementos no solo; • Regulam a disponibilidade para as plantas; • Promovem perdas para a atmosfera e para o lençol freático, contribuindo para a poluição ambiental; • Promovem alterações químicas no solo (ex: pH).
- Produção de metabólitos diversos.	<ul style="list-style-type: none"> • Substâncias reguladoras do crescimento vegetal (hormônios e alelopáticos) e microbiano (antibióticos); • Substâncias solubilizantes, quelantes e complexantes (sideróforos, ácidos orgânicos); • Agentes de aderência, cimentação e agregação do solo; • Metabólitos carcinogênicos e poluentes; • Importante fonte de novos químicos de aplicação industrial.
- Degradação de compostos xenobióticos (ex: pesticidas).	<ul style="list-style-type: none"> • Promove a desintoxicação e a degradação de pesticidas e materiais poluentes no solo; • Diminui o acúmulo desses compostos no ambiente, nos alimentos e na cadeia alimentar.



Figura 4.1. Processos biológicos do solo: suas inter-relações e funções no ecossistema. (Siqueira & Trannin, 2003.)

Nas raízes, como consequência de seu metabolismo, há a liberação para suas imediações, de forma ativa ou passiva, de várias substâncias orgânicas. Tal processo é conhecido como rizodeposição e, a zona sob sua influência denominada, rizosfera, um importante nicho microbiológico no solo. Também ocorre a transferência de fotoassimilados diretamente para organismos simbiotróficos, especialmente com as raízes, estabelecendo relações mutualistas ou parasíticas também consumidoras de grandes quantidades de fotoassimilados. Estima-se, por exemplo, que apenas a fixação biológica de N_2 atmosférico consome 2,5% da fotossíntese total do planeta.

Para realizar a fotossíntese e produzir biomassa, as plantas, obedecendo ao ciclo biológico de cada espécie, absorvem, da solução do solo, água e nutrientes inorgânicos, translocando-os via xilema para a parte aérea (Figura 4.2). Os nutrientes absorvidos e assimilados são, pelo menos em parte, devolvidos ao solo via translocação pelo floema, e fluxo na rizosfera e, principalmente, após a morte ou colheita da planta. No solo, os nutrientes, juntamente com o carbono na forma de serrapilheira e MOS, sofrem transformações químicas, pelos heterotróficos, sendo liberados na forma de gases para a atmosfera, reabsorvidos pelas raízes, imobilizados na microbiota ou perdidos por lixiviação ou pela erosão do solo podendo atingir o lençol freático ou corpos d'água, onde sofrem também outras transformações bioquímicas. Assim, como a fotossíntese é considerada um processo essencial para a vida em nosso planeta, as transformações que os fotoassimilados ou seus produtos sofrem no solo são, no todo, juntamente com a fixação biológica do nitrogênio, de igual importância, pois é através de processos mediados pelos microrga-

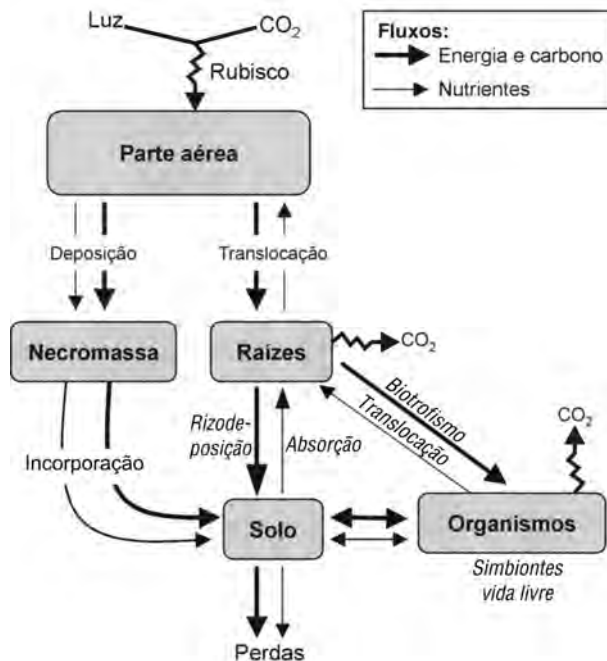


Figura 4.2. Representação esquemática dos processos do fluxo de energia, carbono e nutrientes no sistema solo-planta-organismo.

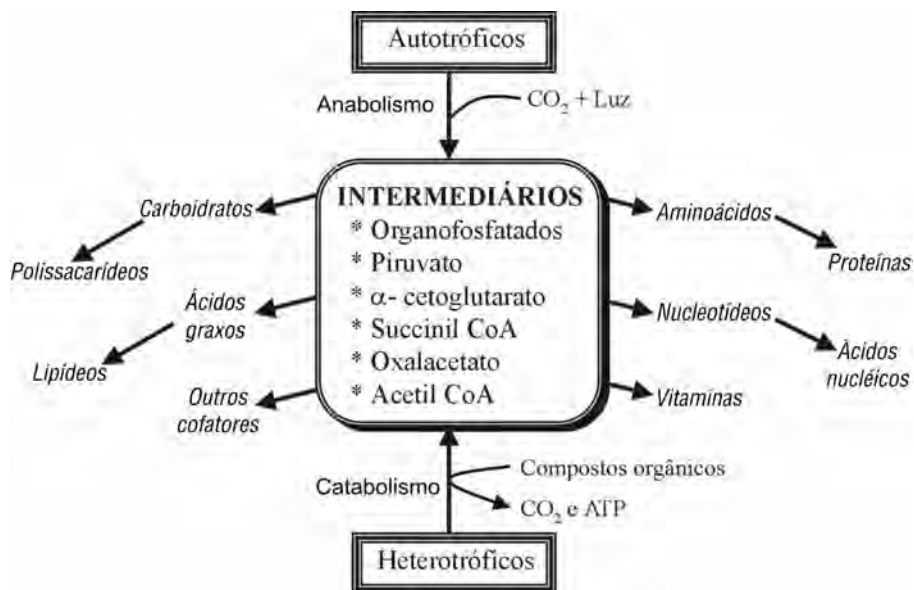


Figura 4.3. Resumo das rotas metabólicas do anabolismo e catabolismo que convergem para a produção de compostos intermediários que integram os processos bioquímicos dos organismos autotróficos e heterotróficos.

nismos do solo que a energia e os elementos absorvidos pelas plantas são reciclados, garantindo o funcionamento do ecossistema e o equilíbrio na Terra.

Ao conjunto de transformações e reações químicas catalisadas biologicamente ou metabólicas que acontecem no solo dá-se o nome de “atividade biológica”, destacando-se a heterotrofia, que é o resultado de atividades individuais de enzimas, células, organismos e populações em interações químicas e biológicas constantes, moduladas pelas condições ambientais e ações antrópicas impostas sobre o ambiente.



Figura 4.4. Ilustração da natureza indissociável entre os organismos, processos bioquímicos e condições ambientais do solo.

Os processos biológicos do solo, portanto, formam um contínuo indissociável com organismos que nele se proliferam e com as condições ambientais dominantes (**Figura 4.4**). Supõe-se que, se essa atividade fosse interrompida, a vida no planeta cessaria em algum tempo, pois o carbono e outros elementos essenciais tornar-se-iam imobilizados em formas orgânicas reduzidas (ricas em energia e nutrientes), acumulando-se principalmente no solo, reduzindo-se até a interrupção da ciclagem desses elementos e da energia no ecossistema. Também é interessante ressaltar que, sem a energia da fotossíntese vegetal ou bacteriana, a conversão biológica do N_2 a NH_3 não ocorreria, comprometendo-se também a continuidade dos processos vitais por falta de N reduzido (NH_3).

4.2. Os fundamentos do metabolismo do solo

Os microrganismos são sistemas químicos autônomos capazes de autopropagação, obedecendo às leis da física e da química e sendo capazes de converter uma forma de energia para outra através de um conjunto de reações químicas denominadas *metabolismo*. Tais reações seguem um alto grau de ordenação, sendo mediadas pela absorção de nutrientes e substâncias energéticas que, através de transformações metabólicas, sustentam o crescimento e a multiplicação celular. A nova massa celular torna-se substrato após a morte celular, sendo ingerida e oxidada por outros organismos, estabelecendo-se uma sucessão trófica no ecossistema. Neste texto, considera-se metabolismo microbiano quando se refere aos microrganismos de forma ativa, e metabolismo do solo, quando se refere ao conjunto de todas as transformações biocatalisadas que nele ocorrem, incluindo organismos macroscópicos.

Para estudar a Microbiologia e Bioquímica do solo, é necessário entendimento razoável dos princípios químicos e biológicos que fundamentam essa disciplina, como já abordados em parte em capítulos anteriores. Um aspecto essencial passa pelo metabolismo, cujo conceito central se refere “à obtenção de car-

bono e energia para o crescimento celular, manutenção e sobrevivência”, sendo comum a todas as formas de vida, inclusive as microscópicas. O metabolismo central consiste em reações bioquímicas capazes de produzir (exergônicas) ou consumir (endergônicas) energia. Essas reações compõem o metabolismo degradativo (catabolismo) e o de síntese molecular (anabolismo), ambos de ocorrência simultânea nos processos celulares (Figura 4.3) e essenciais às funções celulares e a qualquer forma de vida. Esses processos são precedidos e controlados por eventos intracelulares específicos iniciados por transcrição gênica até a síntese de proteínas com função enzimática que catalisam, por exemplo, as transformações do substrato (Figura 4.5) permitindo o funcionamento de rotas metabólicas específicas para liberação de energia e elétrons, como resumido na figura 4.6, e a integração das funções fisiológicas e rotas bioquímicas do catabolismo e anabolismo celular (Figura 4.3). Isso forma a base bioquímica do metabolismo microbiano do solo, que, ao mesmo tempo, degrada os restos orgânicos e sintetiza novas moléculas para a constituição de nova biomassa microbiana. Células microbianas em crescimento usam substrato reduzido, consumindo, em condições aeróbias, O_2 para oxidar os materiais energéticos através de reações exergônicas para obter energia para o crescimento e manutenção (Figura 4.7). A energia catabólica é liberada na forma de calor ou transferida para compostos fosfatados (ADP/ATP) e dinucleotídeos ($NAD^+/NADH$ e $FAD/FADH$) oxidados, onde é armazenada como elétrons. Esses compostos são chamados na reação química de equivalentes redutores que são consumidos nas reações de síntese e outros processos vitais (Figura 4.6).

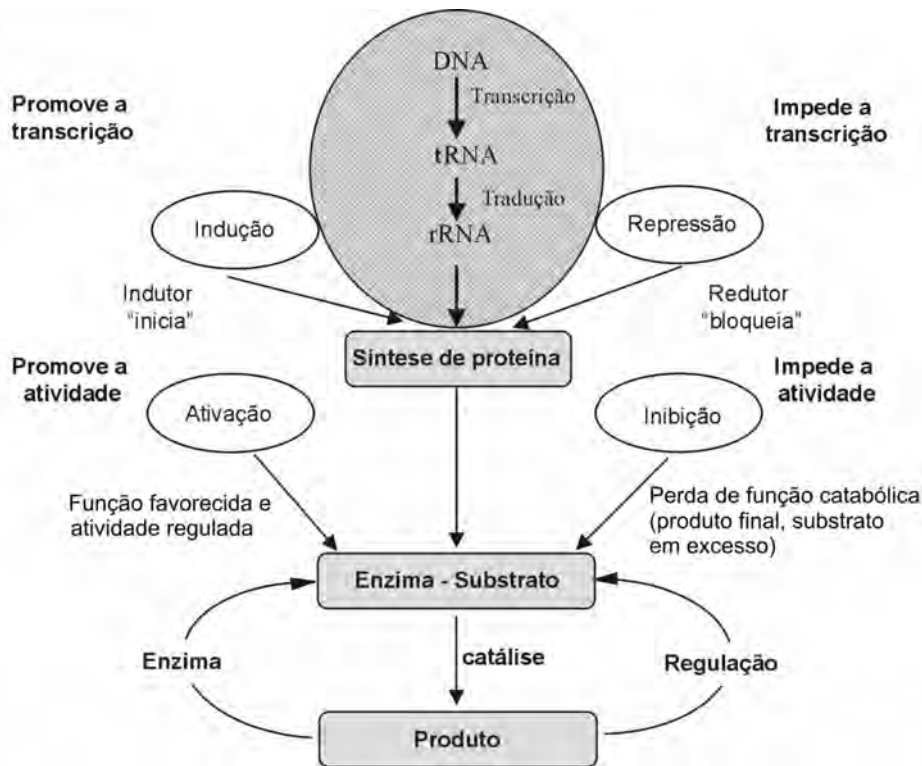


Figura 4.5. Ilustração simplificada dos mecanismos de controle da síntese de proteína e atividade enzimática no solo.

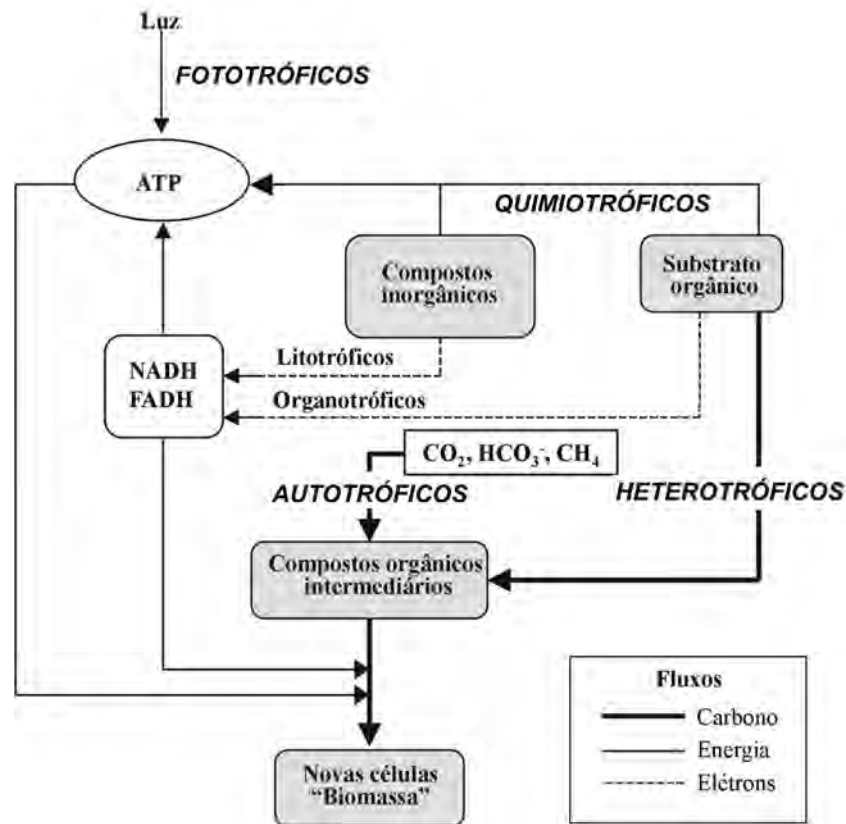


Figura 4.6. Resumo das rotas metabólicas por meio das quais os microrganismos do solo adquirem energia, força redutora e intermediários de carbono para biossíntese. (Modificado de Fuhrmann, 1998.)

A grande maioria dos microrganismos encontrados no solo é quimiorganotrófica, derivando energia de substâncias orgânicas (organotróficos). Parte da energia liberada na oxidação é utilizada na biossíntese endergônica de componentes celulares necessários ao crescimento, produção de biomassa e novos propágulos, constituindo o anabolismo. Além da produção de energia, o catabolismo dos materiais carbonáceos serve para a produção de blocos intermediários para síntese de constituintes celulares, como já mencionado. Os microrganismos fototróficos, que convertem energia luminosa em química, e autotróficos, que convertem C-inorgânico (CO_2 , carbonatos e CH_4) em compostos orgânicos através da fixação deste elemento, também são comuns e importantes em certas condições ambientais.

O solo não é um ser ou entidade viva, mas, no contexto da bioquímica, comporta-se como tal, atuando como um grande reator onde ocorrem inúmeras reações químicas complexas, sendo as principais realizadas diretamente ou mediadas pelas diversas formas de vida que nele se prolifera. Como visto no capítulo 2, a microbiota do solo apresenta enorme diversidade morfológica, fisiológica e funcional, o que implica grande diversidade metabólica que garante a grande atividade reativa desse ecossistema.

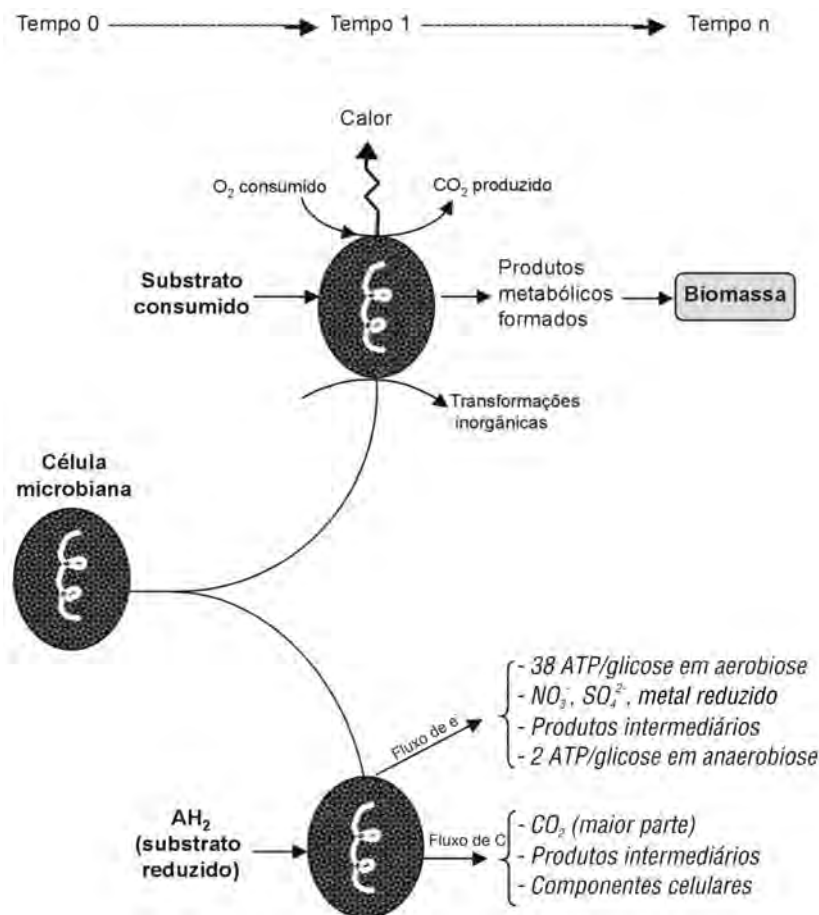
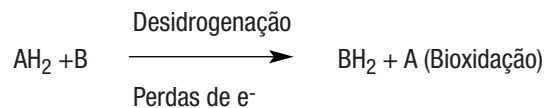


Figura 4.7. Ilustração do crescimento microbiano em relação ao consumo de substrato, geração de energia, produtos metabólicos e biomassa. Observar fluxo concomitante de elétrons e carbono no processo bioquímico. (Modificada de Waid, 1984.)

De modo generalizado, os organismos do solo envolvidos na decomposição da matéria orgânica podem ser tratados coletivamente como quimiotróficos, proliferando-se através da obtenção de energia e carbono de várias fontes como compostos orgânicos e inorgânicos reduzidos. A degradação dos substratos orgânicos resulta de inúmeras reações químicas seqüenciadas mediadas pelas enzimas que são reguladas intrinsecamente ou por fatores externos como ilustrado na figura 4.5. Os microrganismos possuem capacidade quase ilimitada de crescimento. Se uma única célula microbiana pudesse crescer sem qualquer limitação, produziria 281.500×10^9 células, o que equivale a 15.000 kg de novas células em apenas 2 a 3 dias. Se o homem crescesse na mesma proporção, atingiria 1.800 m de altura.

Considerando-se os aspectos bioquímicos do requerimento energético, os microrganismos são categorizados de diversas maneiras, como já apresentado no capítulo 2 (Tabela 2.5) e aqui resumido na

figura 4.6. Quanto à fonte de energia, eles podem ser *quimiotróficos* ou *fototróficos*; quanto à fonte de força redutora, em *organotróficos* ou *litotróficos* e quanto à fonte de carbono para o anabolismo em *heterotróficos* ou *autotróficos*. Desse modo, os fungos, por exemplo, são quimiorganoheterotróficos, enquanto bactérias fotossintetizantes são fotolitoautotróficas. Entretanto, é comum o uso de classificação abreviada como simplesmente “*heterotrófico*” para os fungos e “*autotróficos*” para as bactérias fotossintetizantes. Por ser a maioria dos microrganismos do solo heterotróficos ou quimiorganotróficos, a heterotrofia representa, em termos gerais, o mais importante processo do metabolismo microbiano no solo, em oposição à autotrofia, que é típica dos vegetais, mas que ocorre também em bactérias fotossintetizantes, uma pequena parcela de microrganismos do solo. A capacidade heterotrófica (decompositora) do solo, portanto, torna-o um grande biorreator ou bioincinerador que regula processos globais essenciais à manutenção da vida. Por essa função, o solo é considerado o “estômago” da Terra, cuja atividade resulta da ação das incontáveis células fisiologicamente ativas capazes de realizar as reações catabólicas que se contrapõem à fotossíntese. O processo geral da heterotrofia constitui um dos principais temas da Bioquímica funcional dos ecossistemas terrestres, podendo ser genericamente representado pela equação a seguir:



AH_2 – substrato reduzido (material orgânico a ser oxidado)
 B – aceptor de elétron ou de H^+
 BH_2 – substância reduzida formada
 A – produto oxidado

A heterotrofia é o alicerce da Bioquímica do Solo, consistindo de três processos principais resultantes do crescimento e da atividade metabólica microbiana (Figura 4.7), representados por: a) um fluxo de elétrons, que, dependendo das condições de oxirredução tem como aceptor final o O_2 (aerobiose) ou formas inorgânicas de N, S, C e metais oxidados ou compostos orgânicos de cadeia curta (anaerobiose); b) um fluxo de carbono que gera CO_2 , CH_4 , componentes celulares (biomassa) e produtos orgânicos intermediários para a biossíntese e c) um fluxo de energia na forma de ATP, que sustenta o anabolismo para a produção de biomassa e as funções celulares diversas.

Em condições ambientes ideais, o crescimento microbiano, responsável direta ou indiretamente pelas transformações comentadas, ocorre em função da disponibilidade de substrato reduzido (material orgânico), conforme descrito pela equação:

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{\mu x}{y_g} + mx$$

em que s é a concentração de substrato no tempo t ; m a taxa de crescimento específico, x , a biomassa produzida, y_g , o crescimento real e m , o coeficiente de manutenção, o qual depende da proporção da

biomassa que está em atividade ou em dormência metabólica. Para que haja crescimento microbiano, o fator ds/dt , que indica a disponibilidade de substrato em determinado tempo, tem que ser maior que mx que é a biomassa produzida e mais o gasto para sua manutenção. Em vista da rapidez com que o crescimento microbiano se dá, a disponibilidade de substrato é geralmente limitante para a microbiota do solo e, por isso, existe uma rápida e grande resposta à adição de substrato orgânico no solo que, como já comentado no capítulo 3, é considerado um “deserto nutricional”. Outro aspecto importante é a eficiência de conversão do substrato em biomassa microbiana, isto é, quanto do carbono utilizado é convertido em novas células. Os coeficientes de utilização do substrato variam em função da sua natureza, podendo atingir 60%, dependendo da sua degradabilidade pela população do solo que o decompõe. Substratos com baixa taxa de decomposição são menos aproveitáveis pelos microrganismos, conforme exemplos na **tabela 4.2**. Substrato como os açúcares aaminados, facilmente decompostos, são mais bem utilizados pelos microrganismos em comparação com outros mais difíceis de serem decompostos, como, por exemplo, a lignina que tem eficiência de apenas 10%. Desse modo, a conversão de um resíduo orgânico em biomassa microbiana no solo depende, entre outros fatores, da sua constituição química. Por exemplo, palhas de cereais, cuja taxa de decomposição (k) é da ordem de $0,05 \text{ dia}^{-1}$ e eficiência de utilização em torno de 30%, produzirão pouca biomassa em curto período.

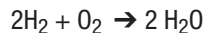
Tabela 4.2. Taxa de decomposição e eficiência de conversão do C em biomassa, utilizando modelos de simulação de laboratório (Modificado de Voroney et al., 1981).

Substratos	Taxa de decomposição	Eficiência de utilização
	$K, \text{ dia}^{-1}$	%
Açúcares aaminados	0,2	60
Celulose-hemicelulose	0,08	40
Lignina	0,01	10
Produtos microbianos	0,3 a 0,8	25 a 40
MOS protegida	$0,3 \times 10^{-3}$	20
MOS envelhecida	$0,8 \times 10^{-6}$	20

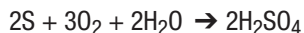
4.2.1. Processos de oxirredução

O metabolismo celular compreende reações de redox (oxidação e redução) que determinam a tendência do fluxo de elétrons no processo oxidativo. A oxidação refere-se à perda de elétrons, perda de H^+ ou ganho de O_2 , enquanto a redução, que é o contrário, refere-se a ganho de e^- , de H^+ ou perda de O_2 . Uma substância, quando sofre oxidação, transforma-se em outra com menor nível de energia potencial, enquanto a que sofre redução aumenta seu nível de energia, reações essas geralmente acopladas a outras metabólicas e que não ocorrem separadamente. Assim, a oxidação de uma substância só se dá quando há a redução de outra. Como conseqüências, ocorrem mudanças no estado de oxidação dos elementos que geralmente compõem as substâncias em transformação no solo. O estado de oxidação/redução é determinado por vários aspectos moleculares do substrato.

Por exemplo, altas razões de H/O determinam alto estado de redução da substância. Alguns exemplos de reações acham-se a seguir:



Cada hidrogênio perde um elétron e é oxidado do estado 0 para +1, e cada oxigênio ganha dois elétrons, sendo reduzido de 0 para -2.



O enxofre é oxidado de 0 para +6 e o oxigênio, como na reação anterior, de 0 para -2.



O nitrogênio é oxidado de -3 para +3 e o oxigênio é reduzido de 0 para -2.



O carbono é reduzido de +4 para -4 e o hidrogênio, oxidado de 0 para +1.

Observa-se que, na primeira reação, ocorrem, na verdade, duas reações: uma de oxidação que é a transformação do H_2 para $2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ e uma de redução, que é a formação da água. A tendência de uma dessas reações ocorrer é determinada pelo potencial elétrico (E_0) que, quando medido em condições padronizadas, é conhecido como potencial de oxirredução (E_h), medido em milivolts (mV). No solo, o potencial oxirredução representa a soma dos vários pares de oxidação e redução ali existentes, sendo, portanto, muito complexo e variável em função de suas propriedades e condições de uso. Assim, o tipo de metabolismo predominante em determinado solo pode ser aeróbio ou anaeróbio exercendo efeito determinante em vários processos bioquímicos, como apresentados na **tabela 4.3**. O potencial (E_h) de algumas reações importantes no solo varia de +820 mV para $1/2 \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ a -500 mV para o $\text{CO}_2/\text{glicose}$, existindo vários pares intermediários como exemplificados na **figura 4.8**.

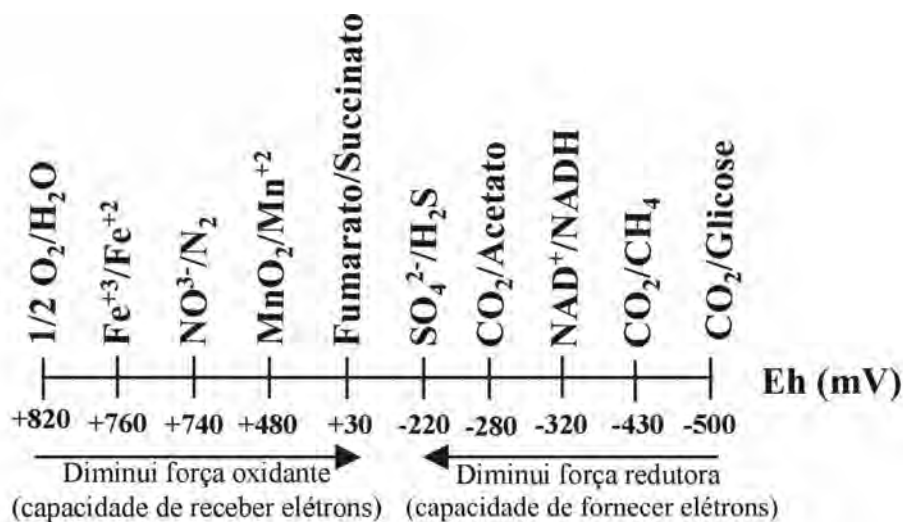


Figura 4.8. Potencial de oxirredução de algumas reações metabólicas importantes no solo

Tabela 4.3. Resumo das rotas da decomposição biológica de materiais orgânicos no solo em função das condições de oxirredução (Baseado em Reddy et al., 1986).

Rota (Condição oxirredução)	Principais transformações e resultados no solo
Respiração aeróbia (Redução do O_2 e $E_h \geq 300$ mV).	Decomposição gera grande quantidade de energia, CO_2 e biomassa microbiana. É estimulada pelo O_2 .
Respiração anaeróbia facultativa (E_h de 100 a 300 mV – redução do NO_3^- e de -100 a 100 mV – redução de Fe e Mn).	Decomposição produz aminoácidos, carboidratos e ácidos graxos de cadeia longa, usados para produção de biomassa. Produz NH_4^+ que sofre nitrificação na zona com E_h de 100 a 300 mV, causando a redução dissimilatória do NO_3^- para NH_4^+ , N_2O e N_2 . Na zona com E_h de -100 a 100 mV, ocorre a redução de Fe_2O_3 para Fe^{+2} e de MnO_2 para Mn^{+2} . Há produção de CO_2 na redução dos metais. É inibida na presença de O_2 .
Respiração anaeróbia (E_h de -200 a -100mV ocorre a redução do SO_4^{2-} e ≤ -200 mV, a formação do metano).	Decomposição produz as mesmas substâncias da respiração anaeróbia facultativa, causando a redução do SO_4^{2-} , ou sofrem fermentação ácida, produzindo ácidos graxos de pequena cadeia; CO_2 e H_2 podem ser oxidados na zona aeróbia e H_2S , que é oxidado a SO_4^{2-} . O CH_4 , se atingir a zona oxidada ($E_h \leq 300$ mV), é oxidado a CO_2 . O H_2S produzido converte-se a FeS na presença de Fe.

4.2.2. Metabolismo aeróbico

O metabolismo aeróbio é predominante na maioria dos solos onde há disponibilidade de O_2 e $E_h \geq 300$ mV. Nessas condições, monômeros como a glicose e outros açúcares simples, liberados pela quebra enzimática de macromoléculas, são catalisados na via glicolítica (glicólise) a piruvato, conforme representado resumidamente na **figura 4.9**. Na glicólise, há o consumo inicial de 2 ATPs para impulsionar estádios preliminares da reação, ativando a glicose em frutose 1,6 bifosfato, mas há produção de 4 moléculas de ATP nos estádios posteriores, existindo um ganho líquido de 2 ATPs nessa etapa do catabolismo. A triose formada (piruvato) é apenas parcialmente oxidada e ainda conserva grande quantidade de energia, constituindo ótimo substrato energético, usado em outras etapas do catabolismo celular. Na presença de oxigênio ou outro acceptor externo de elétrons, o piruvato é oxidado, através de processo que ocorre em dois estádios. Primeiro é oxidado a acetil CoA liberando CO_2 , sendo produzida, para cada piruvato, uma molécula de NADH, intermediário central no metabolismo oxidativo. No segundo estádio, Acetil CoA sofre oxidações adicionais através de uma série de reações seqüenciadas conhecidas coletivamente como ciclo dos ácidos tricarbóxicos (CAT ou ciclo de Krebs, ciclo do ácido cítrico) predominante no metabolismo celular. Sua função é oxidar grupos acetil, entrando no ciclo como acetil CoA, convertido em CO_2 , enquanto os átomos de H^+ são transferidos para moléculas carreadoras como NAD^+ , FAD^+

e GDP. Como resultado dessas etapas oxidativas, o piruvato é transformado em CO₂, NADH₂, FADH₂, GTP e H₂O. Os carreadores eletrônicos reduzidos (NADH₂ e FADH₂) são processados na cadeia de transporte de elétrons e oxidação fosforilativa para produção de ATP e regeneração dos carreadores oxidados, que são ligados à glicólise e ao CAT para captar novos elétrons em um processo cíclico. Os elétrons são transferidos para o oxigênio que leva à formação de ATP na fosforilação oxidativa, terceiro estágio e última etapa do catabolismo, onde a maior parte da energia metabólica é liberada. Para isso, O₂ e ADP + Pi são necessários para a produção de ATP, H₂O e NAD⁺. Na presença de oxigênio, tem-se a seguinte equação geral para a oxidação completa (mineralização) da glicose:

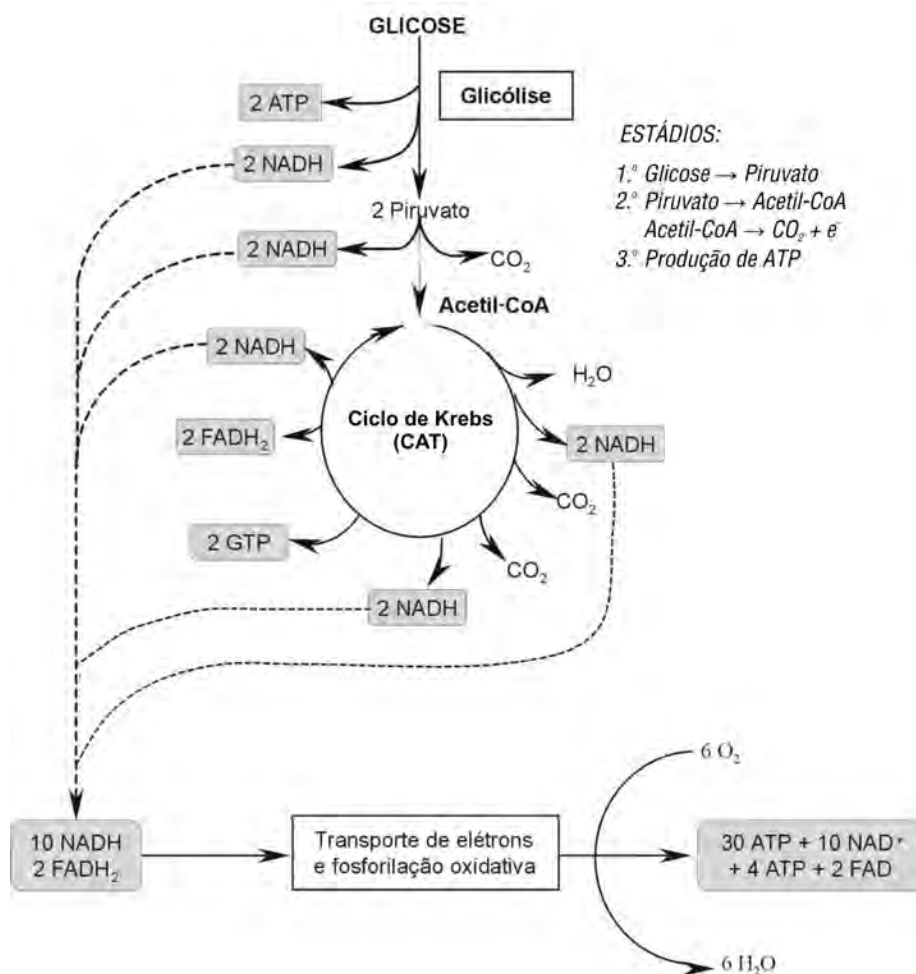
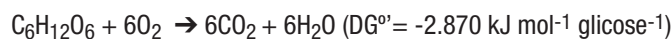


Figura 4.9. Esquema resumido da oxidação da glicose acoplado ao ciclo de Krebs e oxidação fosforilativa. A linha tracejada representa o fluxo de elétrons.

176 Capítulo 4 · Metabolismo e Processos Microbianos

Trata-se de uma reação com alta produção de energia livre, suficiente para gerar 36 ATP via respiração aeróbia, correspondendo a um rendimento energético de 42%. Outros substratos, como lipídios, ácidos graxos, proteínas e aminoácidos, sofrem lise macromolecular e posterior oxidação, produzindo também Acetil-CoA, que entra na via da respiração aeróbia. Esses processos são típicos de qualquer metabolismo celular aeróbio, sendo realizados, no solo pelos heterotróficos, principais responsáveis pela reciclagem do C, nutrientes e energia, transformações essas fundamentais para manter a qualidade do solo.

4.2.3. Metabolismo anaeróbio

Em solos com volume de atmosfera de O_2 inferiores a 1%, ocorre insuficiência desse elemento para os processos bioquímicos, causando mudanças na comunidade microbiana. Em ambientes anaeróbicos sucedem vários grupos de microrganismos e metabolismos respiratórios distintos (Tabela 4.4). É interessante notar que grupos aeróbios também crescem em ambientes anóxicos. Os microrganismos que crescem em condições anaeróbias usam compostos inorgânicos oxidados (NO_3^- , SO_4^{2-} e metais oxidados) em lugar do O_2 como acceptor terminal de elétrons. Esses aceptores têm potencial de redução maior que o oxigênio e, por isso, produzem pouca energia em comparação à respiração aeróbia. Além do aspecto energético, essas reduções resultam em processos como desnitrificação, respiração do nitrato, redução do sulfato e metanogênese, todos de grande importância ecológica nos ecossistemas terrestres. A respiração de compostos inorgânicos (H_2 , Fe^{+2} , NH_4^+ e H_2S) também se dá em um grupo restrito, porém importante de bactérias, as quimiolitotróficas que obtêm energia e força redutora dessas substâncias. Outros aspectos dessas bactérias são abordados no capítulo 2.

Tabela 4.4. Grupos de microrganismos que crescem em ambientes anaeróbios típicos de solos inundados (Kimura, 2000).

Grupo	Características e comentários
1. Aeróbios que podem usar moléculas inorgânicas oxidadas.	Usam aceptores alternativos de elétrons e podem acoplar ao transporte de elétrons através do NADH. Redutores do NO_3^- e NO_2^- e do MnO_2 ou $Fe_2O_3/Fe(OH)_3$.
2. Aeróbios facultativos que fazem fermentação na ausência de oxigênio.	Somente fazem fosforilação do substrato em condições anaeróbias.
3. Anaeróbios obrigatórios que não possuem cadeia respiratória com O_2 como acceptor terminal de elétrons.	São redutores de SO_4^{2-} , metanogênicos e homoacetogênicos.

Vários microrganismos são capazes de usar o NADH_2 produzido na glicólise para reduzir o piruvato a outros compostos orgânicos através de vias metabólicas anaeróbias, produzindo vários ácidos orgânicos como: láctico, acético, propiônico e butírico ou álcoois como etanol e butanol através da fermentação. Esta é caracterizada pela existência de doadores e aceptores endógenos ou internos de elétrons e pela baixa produção de energia, gerando apenas 2 ATPs, o que significa um rendimento energético de 2%. Esses aceptores são gerados intracelularmente das moléculas em degradação; ex.: ácido láctico. Os microrganismos anaeróbios também atuam formando grupos tróficos de grande importância, como os metanogênicos e aqueles dependentes de SO_4^{2-} para degradação de matéria orgânica complexa. Conforme representado na **figura 4.10**, os fermentadores primários atacam os polímeros orgânicos, produzindo monômeros diversos que são transformados em ácidos graxos, succinato e álcool, acetato e lactato, H_2 , CO_2 , HCO_2^- e $\text{CH}_3\text{-R}$, enquanto os secundários, também chamados metanogênicos sintróficos, oxidam ácidos graxos, succinato, álcoois e lactato a compostos mais simples como $\text{CH}_3\text{-R}$ e acetato que são precursores para a produção de CH_4 . No grupo dependente de SO_4^{2-} , os compostos- C_1 , intermediários acetato e H_2 são consumidos por esses redutores em estágio avançado de decomposição, gerando apenas CO_2 . A produção de CH_4 é extremamente importante por ser um gás muito reativo na atmosfera e relacionado ao efeito estufa. Existem três rotas básicas de metanogênese:

- das bactérias metanogênicas que usam H_2 produzido por acetogênicas a partir do CH_3COO^- , conforme reação: $\text{CO}_2 + \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$;
- das bactérias que usam CH_3COO^- produzido pelos fermentadores primários e através da enzima metil-coenzima M-redutase que produzem $\text{CH}_4 + \text{CO}_2$;
- das bactérias que produzem CO_2 a partir do HCO_2^- , conforme reação: $4\text{HCO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow 3\text{CO}_2 + \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$.

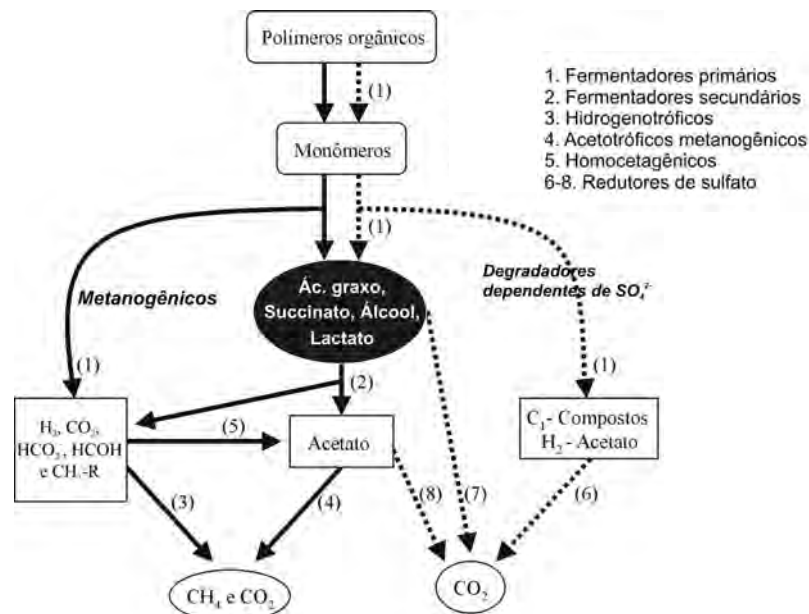


Figura 4.10. Metabolismo trófico de grupos anaeróbios metanogênicos (linhas cheias) e degradadores dependentes de SO_4^{2-} (linhas pontilhadas). (Modificado de Kimura, 2000, e Ferry, 1997.)

A produção de CH_4 é feita por bactérias que utilizam H_2 , HCOH (ácido fórmico), acetato e CO_2 como fonte de elétrons. Outros compostos como metanol, aminas metiladas $[(\text{CH}_3)_3\text{N}]$ e dimetil sulfato $[(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4]$ são também utilizados na produção de CH_4 . As bactérias metanogênicas abordadas também no capítulo 2 fazem, em condições anaeróbias, a redução do H^+ (bactérias redutoras do H) utilizando-o como aceptor de elétrons, formando H_2 e oxidando o substrato a acetato e CO_2 . Em condições aeróbias, bactérias metilotróficas, que oxidam o CH_4 através de monooxigenases, já empregam o SO_4^{2-} e NO_3^- como aceptores de elétrons. Bactérias nitrificantes também podem oxidar o CH_4 . Essas bactérias ocorrem em solos agrícolas aerados e representam um processo importante de consumo de CH_4 do solo, tornando-se parte do ciclo global do carbono. A oxidação anóxica do CH_4 também se dá e parece ser realizada por um consórcio de metanogênicas e redutoras de SO_4^{2-} seguindo a reação: $\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{O}$ ($\text{DG}^\circ = -16,6$ kJ). Outros aspectos da produção de CH_4 no contexto do ciclo do C no solo são discutidos no capítulo 7.

O processo fermentativo ocorre com polímeros orgânicos, açúcares e aminoácidos e são importantes como fonte de carbono e energia para outros organismos, atuando também como quelantes metálicos e agentes de intemperização de solos. Vários dos metabólitos anaeróbicos são fitotóxicos para as plantas, como: ácido propiônico e butírico, que, mesmo em baixas concentrações, podem inibir o crescimento de raízes de várias espécies. A fermentação é um processo degradativo, mas não resulta em mineralização, exceto no caso do acetato, que pode ser oxidado a CH_4 e, posteriormente, a CO_2 . Isso, entretanto, ocorre na camada oxidada do solo, por algumas bactérias metanogênicas. Mesmo assim, a fermentação é considerada uma forma de catabolismo no solo, porém tem cinética, mecanismos bioquímicos e produtos finais bem distintos.

Um dos aspectos de grande interesse do metabolismo anaeróbio em solos inundados é a produção de gases, de grande importância ambiental. CH_4 , N_2O e CO_2 ocorrem em concentrações médias na atmosfera em $\mu\text{L L}^{-1}$ de: 1,7; 0,3 e 365 respectivamente. Apesar das baixas concentrações, CH_4 é 30 vezes mais ativo na absorção térmica relativa e, N_2O , 150 vezes maior que CO_2 . A liberação desses gases, portanto, tem grande contribuição para os problemas ambientais, como o efeito estufa e o estreitamento da camada de ozônio, representando importante elo entre o metabolismo do solo e a qualidade ambiental, tornando-se um tema de grande interesse atual. Sucede também a produção de gases do tipo metil-halogenados como: CH_3I , CH_3Br , CH_3Cl em solos inundados, principalmente naqueles cultivados com arroz (Redeker et al., 2000), sendo a emissão desses compostos tema de grande interesse atual, devido aos efeitos na qualidade do ar, ao efeito estufa e estreitamento da camada de ozônio.

Embora se acreditasse que a mineralização biológica era possível apenas aerobicamente, sabe-se, atualmente, que a mineralização anaeróbia também ocorre, sendo ambos os processos formas de respiração, porque requerem aceptores externos para oxidação degradativa. O solo é geralmente aeróbio ocorrendo a mineralização por fungos e bactérias mediante respiração, mas podem ocorrer microhabitats anaeróbios nos agregados maiores que 6 mm em cultivos irrigados, várzeas inundáveis e pântanos, onde predomina a anaerobiose. No metabolismo anaeróbio, os aceptores podem ser espécies inorgânicas como: Fe^{3+} , Mn^{4+} , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , S^0 , U^{6+} , CO_2 , SeO_4 , SeO_3 , AsO_4 , CrO_4 , TeO_4^{2-} , TeO_3^{2-} e VO_3 e compostos orgânicos como os cloroaromáticos. Nesse caso, o produto da mineralização é CH_4 e CO_2 , dependendo do aceptor. Ao contrário do que se passa na respiração aeróbia, nem todos os anaeróbios que respiram mineralizam os compostos orgânicos que atacam. Esses são degradados apenas parcialmente, como ocorre com *Acetobacter woodii*, *Clostridium* sp. e vários outros organismos redutores de SO_4^{2-} .

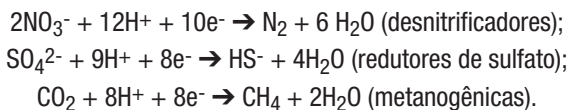
Exemplos de mineralizadores anaeróbios e respectivos aceptores e doadores de elétrons encontram-se na **tabela 4.5**. Mineralizadores anaeróbios são muito restritos em relação ao substrato que atacam e, muitas vezes, dependem dos fermentadores para produzir esses substratos a partir de compostos mais complexos. A mineralização anaeróbia depende da rota para produção de acetil CoA ou ciclo de Krebs e isso depende do tipo de microrganismo envolvido no processo. Geralmente, ocorre a formação de um consórcio de mineralização que, além de muito importante na natureza, tem grande aplicação tecnológica na microbiologia ambiental no tratamento de efluentes urbanos e industriais, onde atuam na redução de sólidos e decomposição de compostos xenobióticos poluidores do meio ambiente.

Tabela 4.5. Exemplos de bactérias capazes de mineralizar anaerobicamente materiais orgânicos no solo.

Bactéria	Aceptor/ doador de elétrons
Eubactéria facultativa	
<i>Paracoccus denitrificans</i>	NO ₃ ⁻ /glicose
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	NO ₃ ⁻ /glicose
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Fe ⁺³ , Mn ⁺⁴ /formiato
Eubactéria anaeróbia obrigatória	
<i>Desulfobacter</i> sp.	SO ₄ ²⁻ /acetato
<i>Desulfobacterium anilini</i>	Sulfato/anilina, resorcinol e catecol
<i>Desulfobacterium</i> sp.	Sulfato/catecol, indol, fenol e lactato
<i>Desulfococcus</i> sp.	Sulfato/acetona e piruvato
<i>Desulfonema</i> sp.	Sulfato/ácidos graxos
<i>Desulfovibrio</i> sp.	Sulfato/ metanol e butirato
<i>Desulfotomaculum</i> sp.	Sulfato/acetato
Estirpes GS-15 e Sés	Fe ⁺³ , Mn ⁺⁴ /acetato e etanol
Archaeobactéria anaeróbia obrigatória	
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	Sulfato/lactato
<i>Methanosarcina</i> sp.	Acetato/acetato
<i>Methanotherix soehnsgeii</i>	Acetato/acetato

Considerando o potencial de oxirredução, o solo, quando alagado, torna-se um ambiente estratificado verticalmente, de modo que as condições redutoras aumentam com a profundidade no perfil. Na camada mais superficial, têm-se os respiradores aeróbios na zona de oxidação, respiradores de nitrato no topo da zona redutora e abaixo deles, respiradores do sulfato e metanogênicos nas camadas mais profundas, onde o ambiente é mais redutor. O potencial redox dessas zonas pode variar muito, assim como os valores limites de E_h adotados por diferentes autores. É difícil estabelecer valores fixos de E_h onde certos processos ocorrem, mas em termos gerais o metabolismo aeróbio com consumo de O₂ se dá com redox ≥ 300 mV. Os desnitrificadores atuam em ampla faixa de +710 a -100 mV; os redutores de Fe e Mn; de +500 a -100 mV; os redutores do sulfato, em sua maioria de 0 a -300 mV e, os metanogênicos, de -150 mV a valores mais baixos, e os produtores de H₂ de, -150 a -220 mV. Exemplos de

reações acopladas à oxidação de substratos orgânicos em condições redutoras de interesse para a Bioquímica do Solo são apresentados a seguir:



Como já mencionado, esse tipo de metabolismo é de grande importância para a ecologia microbiana do solo e para os processos biogeoquímicos de C, N, S e de elementos metálicos, evitando que ambientes anóxicos se tornem drenos permanentes para materiais orgânicos da biosfera. Em alguns casos, porém, como em solos orgânicos anóxicos, a mineralização anaeróbia é limitada pela disponibilidade de aceptores externos de elétrons entre vários outros fatores que facilitam o acúmulo gradativo de matéria orgânica. No entanto, quando a condição de anoxia é removida, a mineralização torna-se muito rápida.

A microbiologia de solos alagados tem sido objeto de diversos estudos no mundo todo. Por exemplo, Kimura (2000) relata que a camada arável (0-14 cm) de um solo sob cultivo de arroz inundado tem população de aeróbios semelhantes à encontrada em solos de terras altas bem drenadas: 30 e $23 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ de solo, respectivamente, mas a população de nitrificantes é 7 vezes maior no solo bem drenado que nos inundados. Situação contrária verifica-se para os redutores de SO_4^{2-} que, no solo inundado, é de $43,6 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ de solo e de apenas $2,9 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ de solo aerado. Isso evidencia o fato de que os processos bioquímicos dominantes em solos com diferentes condições de oxirredução são distintos. Quando a mudança no metabolismo ocorre, há também uma sucessão trófica de bactérias aeróbias para anaeróbias dominadas pelas redutoras de SO_4^{2-} . Embora possam estar presentes, os fungos são inativos em condições de alagamento, podendo manifestar-se quando a condição se tornar aeróbia. O estabelecimento dos processos de redução dá-se em dois estádios: primeiro, a atividade dos aeróbios e anaeróbios facultativos decresce. Em vista do consumo de O_2 , de NO_3^- e da redução de $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}(\text{OH})_3$, o E_h diminui produzindo NH_4^+ e CO_2 . Em decorrência disso, o metabolismo dos estritamente anaeróbios, como os redutores de SO_4^{2-} , acentua-se, sendo seguidos pelos metanogênicos. As alterações especiais no E_h exercem grande influência em tais processos que têm dinâmica e intensidade distintas em microssítios muito próximos um do outro, refletindo sua heterogeneidade microscópica e das características bioquímicas. Difusão da água, porosidade do solo, presença de plantas e temperatura são fatores que influenciam a velocidade das mudanças e a existência de microambientes heterogêneos. Os processos de redução são acompanhados de reações de reoxidação dos aceptores de elétrons oxidados formados como CH_4 , S^{2-} , S^0 e Fe^{2+} . Aceptores de elétrons formados nos locais de estados mais reduzidos e aqueles nos menos reduzidos contribuem para um mascaramento da heterogeneidade do estado de oxidação-redução quando o solo é avaliado quanto a essa característica.

Existem outros aspectos do metabolismo microbiano importantes para a Microbiologia do Solo. Sendo abordados em outras partes deste livro. Recomenda-se uma revisão em textos atualizados de Bioquímica Básica e Microbiana, especialmente nos tópicos relacionados à integração e regulação dos processos metabólicos e à produção de metabólitos secundários envolvidos nas interações microbianas, como os antibióticos e as substâncias reguladoras promotoras do crescimento vegetal.

4.3. Fluxo de energia e dos elementos no sistema organismo-solo-plantas

A energia e os elementos contidos nos materiais orgânicos são reciclados e liberados para manter o equilíbrio na atmosfera. Grande parte da energia captada da luz solar é transferida para o solo juntamente com o C e com os elementos minerais essenciais para as plantas e os animais e que sem transformação acumularia progressivamente na superfície ou no perfil do solo. Ao final do ciclo das plantas (nativas ou cultivadas), os restos vegetais são geralmente incorporados ao solo, onde sofrem um tipo de “processamento biológico” que envolve a fragmentação dos resíduos pela fauna do solo e pelo ataque microbiano, inicialmente pela despolimerização enzimática e pelo processamento intracelular dos monômeros e pequenas moléculas orgânicas. A capacidade da biota do solo desempenhar, de modo eficiente, essa função coloca-a em posição de destaque entre os componentes essenciais dos ecossistemas. Os membros da comunidade microbiana decompositora atuam de modo diferenciado, dependendo do estágio de decomposição do resíduo, havendo uma sucessão induzida pelo tipo de substrato, ambiente e velocidade do processo. Isso é bem documentado para fungos saprofitos na serrapilheira em ecossistemas florestais, porém pouco estudados em solo agrícola propriamente dito. Microrganismos decompositores são geralmente classificados em autóctones e zimógenos (ver cap. 2). Os zimógenos, com crescimento rápido em resposta à adição de resíduo no solo, enquanto os autóctones, que representam a população local (indígena), mantêm sua velocidade (taxa) de crescimento mais ou menos constante, mesmo após a redução de C disponível. Os decompositores que possuem tempo de geração pequeno são também conhecidos como estrategistas “*r*” ou *copiotróficos*. Com a evolução do processo de decomposição, ocorre a sucessão deles para organismos mais especializados denominados estrategistas “*k*” ou *oligotróficos*. Por essas mudanças na população decompositora, que reflete alterações na qualidade do substrato, a taxa de decomposição geralmente se reduz com o tempo.

A quantidade de material orgânico passível de decomposição depositado anualmente no solo é muito variável, sendo menos de 2 t ha⁻¹ ano⁻¹ nos solos cultivados com os cereais a mais de 8 t ha⁻¹ ano⁻¹ em ecossistemas florestais. Exemplos específicos da quantidade depositada e estoque de C em diferentes ecossistemas são apresentados no capítulo seguinte. Estimativas globais indicam que a biomassa vegetal é um grande estoque de C, N, P e S (**Tabela 4.6**), mas seu tempo médio de reciclagem é muito longo, podendo atingir 100 anos, embora o tempo normal seja de 10 anos. Já a biomassa microbiana é um reservatório bem menor, mas com tempo de reciclagem da ordem de 0,2 a 0,6 ano, proporcionando, assim, um grande fluxo de carbono e nutrientes no solo. Considerando um valor médio de 0,5 ano, tem-se que a biomassa microbiana se recicla a taxas até de 200 vezes mais rápida que a biomassa vegetal, evidenciando a importância dos processos microbianos do solo no fluxo de C (energia) e dos elementos absorvidos pelas plantas e animais nos ecossistemas.

O fluxo e principais transformações de C e nutrientes, via matéria orgânica do solo, acham-se representados na **figura 4.11**, sendo assim resumidos: resíduos contendo os elementos são utilizados por fungos, bactérias, actinomicetos e microfauna, que interagem intensamente como comensalistas, antagonistas e predadores através de sucessões e interações tróficas. Por meio de mecanismos bioquímicos específicos, os componentes individuais dos resíduos são decompostos e mineralizados transformando-se

Tabela 4.6. Quantidade global na biomassa vegetal e microbiana e absorção anual de C, N, P e S pelas plantas (Smith & Paul, 1990).

Componente do ecossistema	Estoque global				Tempo de reciclagem
	C	N	P	S	
	Gigaton (10^{15} g)				
Biomassa vegetal	785	13	1,8	1,4	100 anos
Biomassa microbiana	6,0	0,9	0,7	0,2	0,2 a 0,6 ano
Absorção anual (plantas)	60	1,2	0,2	0,1	

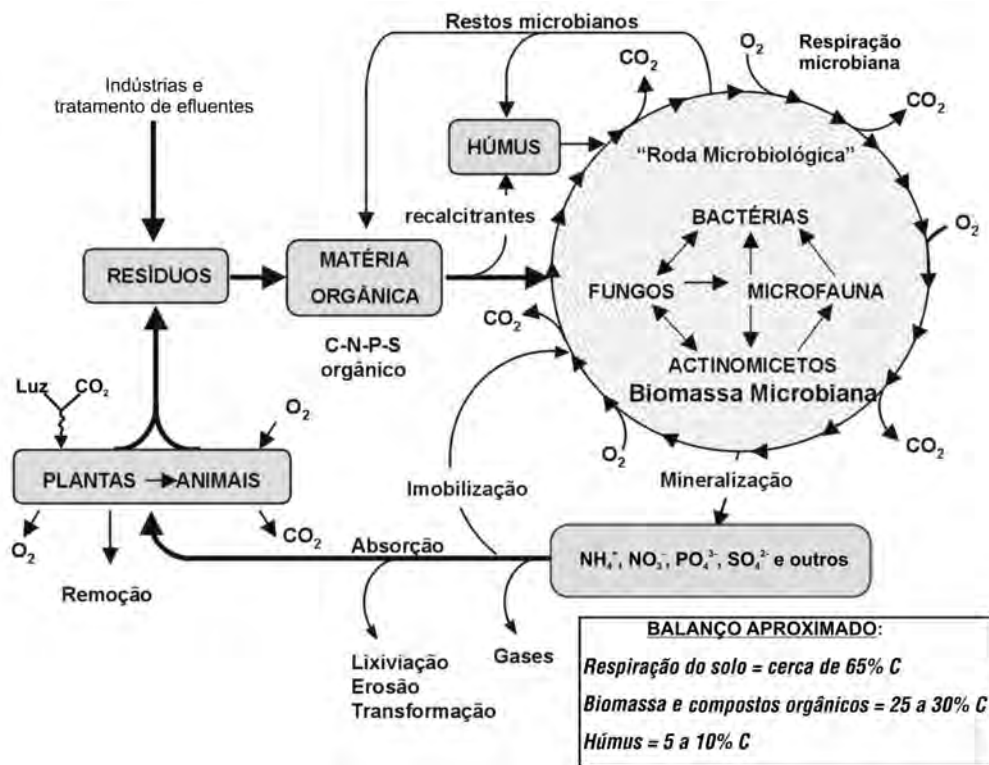


Figura 4.11. Esquema generalizado das transformações e ciclagem de C, N, P e S no sistema solo-planta mediados pela microbiota do solo. (Siqueira, 1988.)

em CO₂, biomassa e liberando os elementos minerais. Em condições aeróbias, a maior parte do carbono depositado é utilizada como fonte de energia primária para o crescimento microbiano, sendo oxidada bioquimicamente a CO₂, liberado para a atmosfera. Esse processo é conhecido por: *respiração do solo* ou *respiração edáfica* e se relaciona de modo muito estreito com a disponibilidade de nutrientes (mineralização) e a atividade enzimática, sendo um bom indicador da “saúde” ou da qualidade do solo. Seus fundamentos bioquímicos, já discutidos neste capítulo, formam a base da biociclagem dos elementos no sistema solo-planta, como abordado nos capítulos seguintes. A liberação de CO₂ do solo contribui para a elevação da concentração de C-CO₂ da atmosfera, o qual, juntamente com o CO₂ da queima dos combustíveis fósseis, aumenta a retenção de raios infravermelhos, contribuindo para a elevação de temperatura na superfície da Terra. Esse efeito é conhecido como “*efeito estufa*”, uma das principais preocupações quanto às mudanças climáticas globais, representando uma ameaça à vida no planeta.

A intensidade dos processos de biotransformação dos materiais orgânicos no solo depende de vários fatores, sendo a quantidade de resíduos adicionada ao solo e as condições ambientais seus principais determinantes. Como se vê na figura 4.11, pode-se considerar a atividade da microbiota como uma roda, cuja velocidade de giro é função da energia metabólica disponível, ou seja, da quantidade de resíduo orgânico oxidável presente no sistema. Quanto mais material orgânico é adicionado, mais rapidamente gira a “roda microbiológica”, consumindo mais O₂, liberando nutrientes e CO₂ das transformações e produzindo mais húmus no solo. Ao final do processo, considera-se que 60 a 70% de C adicionado serão respirados (CO₂); de 25 a 30% ficarão na biomassa e em substâncias orgânicas não humificadas e, de 5 a 10%, retidos na fração húmica, completando, assim, o ciclo do carbono no solo. Deve-se ressaltar que a biomassa produzida representa uma imobilização, geralmente temporária, de energia e nutrientes, sendo a mais importante fonte de enzimas extracelulares que promovem a degradação das macromoléculas.

4.4. Enzimas do solo

Os princípios das reações de redox e da geração de energia são importantes para entender os processos metabólicos, mas insuficientes para inferir sobre a velocidade da maioria das reações químicas. Algumas reações liberam energia muito rapidamente, tornando-se incompatíveis com processos celulares devido à produção de calor, enquanto outras não ocorrem ou acontecem em velocidade tão lenta que não sustentam o metabolismo celular, mesmo apresentando energia livre favorável à reação. Nesse caso, é necessário satisfazer a energia de ativação para romper as ligações químicas entre os reagentes e permitir que se dê a reação.

As moléculas orgânicas geralmente existem em estado metaestável e necessitam de energia de ativação antes que passem para uma configuração mais estável. Essa energia de ativação é fornecida por fonte externa ou reduzida através de um catalisador da reação. Nas células vivas, as reações químicas, como aquelas que causam a quebra de moléculas orgânicas, são catalisadas por um grupo especial de proteínas com alta especificidade funcional, denominadas *enzimas*. Estas se ligam fortemente ao substrato, de maneira específica e tridimensional, causando mudanças na configuração eletrônica nas

ligações mais facilmente modificáveis, reduzindo a energia de ativação, permitindo ou regulando a velocidade da reação química. Esses catalisadores biológicos aumentam a velocidade das reações até em 10^{20} vezes e o número de moléculas de substratos transformadas por molécula de enzima por minuto pode ser superior a 10^6 , graças à reversibilidade e à reciclagem da enzima. A uréia, por exemplo, tem a 25°C meia vida em torno de 32 anos, mas, na presença de urease, sua decomposição é instantânea, meia-vida de apenas 10^{-4} segundos (Ruggiero et al., 1996). As enzimas são essenciais a todas as formas de vida, tendo sua síntese e atividade muito bem regulada (Figura 4.5), podendo ser encontradas até 1.000 enzimas em uma única célula bacteriana. Elas podem atuar fora da célula, ou seja, quando excretadas no meio, permanecendo ativas, mesmo sem o crescimento microbiano. Apresentam alta especificidade de reação, elevada eficiência catalítica, não são consumidas na reação e estão sujeitas a processos de indução, ativação, inibição e desnaturação química ou biodegradação no ambiente. Aspectos da localização das enzimas e interações com as partículas do solo são abordados no item 3.4.1.2.

O comportamento cinético das reações enzimáticas é determinado pelo modelo hiperbólico de Michaelis-Menten e a equação genérica representados na **figura 4.12**. O modelo cinético é fundamentado no fato de que a velocidade da reação é proporcional à concentração do substrato, destacando-se duas características importantes: a velocidade máxima alcançada pela reação ($V_{m\acute{a}x}$) e a constante da reação (K_m), que corresponde à concentração de substrato necessária para atingir a metade da $V_{m\acute{a}x}$. A interação da enzima com o substrato depende da solubilidade deste e de inúmeros fatores como: concentração e propriedade da enzima, natureza do substrato (cristalino x amorfo), presença de outros constituintes (e.g. presença de lignina) e fatores ambientais (e.g. pH, sais, temperatura, argila). A velocidade da reação é calculada de modo diferenciado conforme equações a seguir:

Para substrato solúvel:

$$V = \frac{V_{m\acute{a}x} \cdot S}{K_m + S}$$

Para substrato insolúvel:

$$V = \frac{V_{m\acute{a}x} \cdot S}{K_m + E}$$

Todas as transformações bioquímicas do planeta são dependentes ou relacionadas à presença das enzimas, e o solo, como entidade biológica, é um sistema bioquímico altamente regulado por catálises, onde as principais reações de transformação são mediadas, principalmente, pelas hidrolases e oxirredutases que controlam os processos de decomposição dos materiais orgânicos e transformações inorgânicas. As principais classes e subclasses de enzimas conhecidas são apresentadas na **tabela 4.7**, quase todas podendo ser encontradas no solo. As principais catálises que nele ocorrem envolvem, além das duas mencionadas, as transferases e liases. Nessas quatro classes, destacam-se as enzimas que promovem o rompimento (quebra) de ligações químicas, reações de oxirredução, transferências de constituintes e adição ou remoção de grupos químicos, representando a base das transformações químicas biocatalisadas no solo.

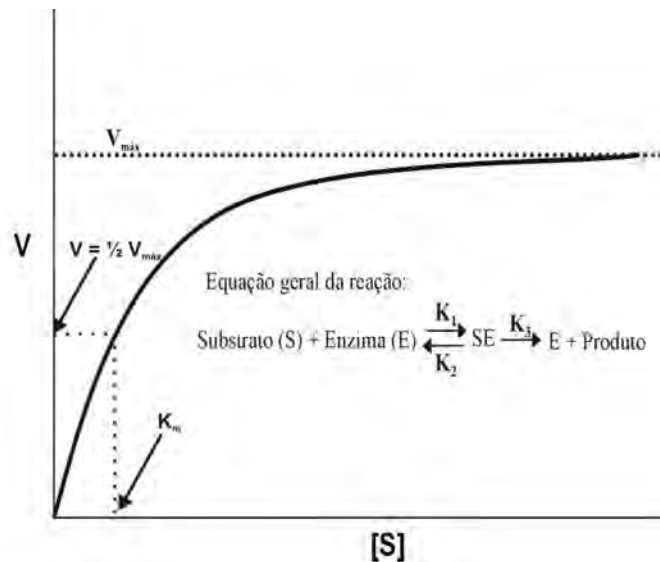


Figura 4.12. Modelo cinético da reação enzimática: o retângulo e a hipérbole descrevem o efeito da concentração do substrato [S] na velocidade da reação (V) e indicam a velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$) e constante da reação K_m .

Embora o número de enzimas diferentes em uma única célula microbiana possa atingir a escala de 10^3 , pouco mais de 50 enzimas têm sido identificadas ou suas atividades detectadas no solo. O interesse pela enzimologia do solo aumentou muito nas últimas décadas. Até 1950, existiam menos de 50 publicações sobre o assunto, enquanto levantamento feito no *site Web of Science* indica a existência de milhares de publicações sobre enzimas do solo na última década. Isso ocorreu devido aos avanços no método de identificação e avaliação da atividade enzimática no solo e na relação mais evidente entre essa atividade e os aspectos da qualidade do solo. As enzimas são relacionadas aos seguintes fatores: decomposição de resíduos, fertilidade do solo, eficiência de uso dos fertilizantes, interações entre plantas e estado de oxirredução do solo, além de servir como estratificador ecológico e indicador da presença de poluentes. As enzimas isoladas do solo geralmente são caracterizadas por apresentar alta estabilidade térmica, ser mais resistentes aos ataques das proteases e ter comportamento cinético com menor $V_{m\acute{a}x}$ e maior K_m , quando comparadas com enzimas de outras origens. Apesar de mais resistentes, portanto, apresentam baixa eficiência catalítica e reduzida afinidade com o substrato (Burns, 1978).

Os microbiologistas do solo classificam as enzimas de acordo com certas características funcionais em relação ao local de atividade e posição de ataque no substrato. Quanto ao primeiro critério, elas podem ser intra e extracelulares. As enzimas intracelulares catalisam reações que ocorrem dentro das células, mas muitas podem ser liberadas após a lise celular e exercer atividades extracelulares, enquanto outras são programadas para ser liberadas e atuar no exterior da célula para degradarem substratos estruturalmente muito grandes para serem transportadas para dentro da membrana celular e metabolizadas.

Tabela 4.7. Principais classes e subclasses de enzimas e exemplos de suas reações (Burns, 1978).

Classes	Exemplos de subclasses	Exemplos de reações
Oxirredutases	Desidrogenases, oxidases, redutases, oxigenases, peroxidases e catalases.	Reações de oxirredução importantes nos processos de respiração e fermentação.
Hidrolases	Glicosidases, peptidases, fosfatases e ribonucleases.	Rompimento de ligações químicas funcionais por hidrólise.
Transferases	Aminotransferases e quinases	Transferência de grupos substituintes entre moléculas.
Liases	Descarboxilases, sintetases e liases.	Adição ou remoção de grupos químicos como CO ₂ , NH ₃ e H ₂ O.
Isomerases	Racemases e isomerases.	Inversões em átomos assimétricos e transferência intramolecular de substituintes.
Ligases	Sintetases e carboxilases.	Ligação de duas moléculas às custas de ATP. Importantes no anabolismo.

Essas enzimas são classificadas como extracelulares. As desidrogenases, por exemplo, são essencialmente intracelulares e têm sido usadas como indicadores da atividade biológica do solo, desde meados do século passado. Os níveis de atividades enzimáticas geralmente apresentam correlação com o consumo de O₂ e atividade global da população do solo. Por exemplo, a atividade da desidrogenase reflete a atividade oxidativa total da microbiota do solo, mas é importante ressaltar que a maioria das desidrogenases é produzida por microrganismos anaeróbios e que, por isso, sua atividade varia inversamente com o potencial redox. Assim, a inundação do solo causa aumento rápido na atividade dessa enzima. Quanto à posição de ataque no substrato, as enzimas são classificadas em exoenzima e endoenzima. As primeiras são tipicamente enzimas extracelulares que catalisam a remoção terminal de monômero de um polímero. As endoenzimas são também tipicamente extracelulares, degradando polímeros através de ligações internas e produzindo oligômeros que serão atacados por exoenzimas. As enzimas são também classificadas em acumuladas e abiônicas. Estas se referem a todas, exceto àquelas de células em proliferação, podendo ser ou estar acumuladas.

A atividade enzimática do solo resulta principalmente da ação de enzimas extracelulares que podem estar livres na solução do solo, adsorvidas nos colóides ou imobilizadas em complexos húmicos. Após a lise das células, as enzimas intracelulares podem atuar também como extracelulares, todas produzidas por microrganismos, animais e plantas, podendo ser encontradas em vários componentes do solo (item 3.2.4; Figura 3.6). Por serem proteínas e, portanto, possuir cargas, dificilmente ocorrem livres no solo. Nas

células vivas em proliferação, localizam-se no citoplasma, na membrana periplasmática e na parede celular ou são excretadas no meio. Ocorrem também em células viáveis em estado de dormência como esporos, células vegetais em repouso, cistos de protozoários e sementes de plantas. Nos restos biológicos encontram-se aderidas a células mortas intactas, a fragmentos celulares ou liberados de células desintegradas e, nos componentes do solo, acham-se geralmente complexadas com substâncias húmicas, argila ou com o próprio substrato. São chamadas enzimas imobilizadas (Figura 3.7). Estudos relacionados ao fracionamento físico do solo indicam a predominância de atividade de várias enzimas como catalase, desidrogenase, urease e protease nas microunidades estruturais do solo com diâmetros menores que 50 μm . Por isso, a atividade enzimática geralmente apresenta forte relação com o estado de agregação do solo.

As enzimas extracelulares são as mais importantes na biodegradação de macromoléculas orgânicas no solo. No entanto, apresentam baixa eficiência catalítica por sofrer grande influência do “microambiente microbiano”, que é muito pequeno (aproximadamente 8 μm^2) e circundado por um filme de água, argila e colóides orgânicos, cátions inorgânicos e ânions repulsados (Figura 3.23). As associações diversas e interações das enzimas com os colóides do solo resultam em diversos efeitos positivos e negativos para as reações enzimáticas. Além da interação com as células microbianas, os substratos e as próprias enzimas interagem com as partículas coloidais interferindo na concentração e na acessibilidade do substrato para o ataque enzimático. Estão sujeitas, portanto, a grande interação com o meio físico, podendo sofrer adsorção, desnaturação e biodegradação antes de atingir o substrato (Figura 4.13). Em alguns casos, o produto da reação pode ter função reguladora desta, e o próprio produto pode sofrer interferência idêntica à sofrida pela enzima, tendo dificuldade para interagir com a célula microbiana que produz e excreta a enzima. A imobilização das enzimas nos colóides inorgânicos do solo, ou nas substâncias húmicas formando complexos orgânicos ou organominerais também influencia de diversas maneiras a atividade enzimática. Por exemplo, as glicosidases e as ureases mobilizadas atacam o substrato liberando glicose para os microrganismos heterotróficos e amônia para *Nitrosomonas* respectivamente, e isso ocorre mesmo sem o crescimento microbiano no solo.

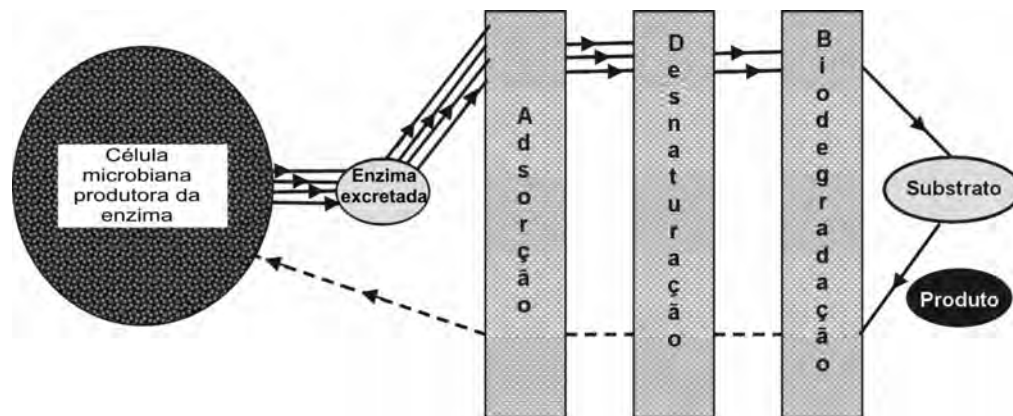


Figura 4.13. Ilustração dos mecanismos de atenuação da atividade enzimática no solo resultante das interações enzima-substrato por vários fatores bióticos e abióticos. (Modificado de Burns, 1989.)

188 Capítulo 4 · Metabolismo e Processos Microbianos

A indução ou a repressão da síntese e a atividade das enzimas são complexas e reguladas por processos básicos da biologia (Figura 4.5) ou por fatores ambientais (**Tabela 4.8**). Outro aspecto importante relacionado às enzimas no solo é a existência de formas múltiplas como se verifica com a celulase que envolve três hidrolases distintas: a) exoglicanase ou celobiohidrolases, que quebram ligações, -1,4 exoglicano e libera glicose ou celobiose da parte não redutora; b) endoglicanase que atua nas ligações, -1,4 endoglicano, rompendo aleatoriamente ligações glicosídicas internas, e c) glicosidase que hidrolisa celobiose e oligossacarídeos em glicose.

Tabela 4.8. Fatores que interferem na atividade enzimática no solo (Modificado de Gianfreda & Bollag, 1996)

Fatores	Comentários
Estacionais	Fraca relação direta com variação estacional, as interferências são predominantemente indiretas.
Geográfico	Reflete a vegetação, o solo e o clima (condições edafo-climáticas).
<i>In situ</i>	Profundidade no perfil. Efeito muito variável em função do tipo de solo e ambiente.
Físico-químicos do solo	Correlações com presença, tipo e nível de atividade de argilas, com pH, umidade, CTC, C, N-total, húmus e sais solúveis.
Antrópicos	Desmatamento, decaptação do solo, precipitação ácida, deposição de metais pesados e poluentes orgânicos e uso agrícola inadequado.
Agronômicos	<ul style="list-style-type: none"> - Disponibilidade de substrato e quantidade de enzima ativa são geralmente limitantes para a atividade enzimática do solo. - Fertilizantes têm efeitos complexos, podendo estimular ou inibir a atividade enzimática. - Materiais orgânicos são geralmente estimulantes por favorecer a atividade microbiana. - Solos sob cultivo mínimo geralmente têm maior atividade enzimática em comparação àqueles sob cultivo intensivo. - Rotação de culturas, especialmente com leguminosas, e diversidade de culturas favorecem a maior atividade microbiana. - Uso de pesticidas: efeito depende de fatores como natureza química, dose, frequência, tipo de solo e cultura, mas geralmente têm pouca influência.

O solo encontra-se em constante estado de desequilíbrio químico como resultado dos inúmeros processos e reações que nele ocorrem. Como todas as transformações bioquímicas são dependentes ou relacionadas à presença de enzimas, estas assumem grande importância. No entanto, determinar a importância de processos específicos com dada atividade enzimática, que resulta da combinação ou interação de vários fatores biológicos e químicos, torna-se difícil. Devido à sua baixa concentração, a quantificação das enzimas no solo é geralmente determinada pela sua atividade (medida indireta) e não pela quantidade. A atividade é geralmente medida através da quebra de um substrato específico em condições padronizadas e alguns valores considerados típicos para atividades de várias enzimas são apresentados na **tabela 4.9**. Deve-se ressaltar que esses valores variam muito em função do solo, vegetação e outros fatores, como comentado. No caso do índice de atividade microbiana, empregando o diacetato de fluoresceína (DAF), verifica-se que esse substrato é hidrolisado por várias proteases, lipases e esterases liberadas pelas bactérias e fungos ativos que são decompositores primários. A medida da hidrólise do DAF para fluoresceína é um bom indicador da atividade total dos decompositores do solo; portanto, um bom índice da atividade heterotrófica total do solo.

Tabela 4.9. Valores médios considerados típicos para atividades de várias enzimas no solo (Dick et al., 1996).

Enzima	Ciclo	Valor médio para amostras de solo úmido
Desidrogenase	Oxigênio	337 mg TPF kg ⁻¹ 24 h ⁻¹
β-glicosidase	Carbono	148 mg pNF kg ⁻¹ solo h ⁻¹
Urease	Nitrogênio	220 mg N-NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ 2h ⁻¹
Amidase	Nitrogênio	175 mg N-NH ₄ ⁺ kg ⁻¹ 2h ⁻¹
Fosfatase ácida	Fósforo	617 mg pNF kg ⁻¹ solo h ⁻¹
Fosfatase alcalina	Fósforo	122 mg pNF kg ⁻¹ solo h ⁻¹
Arilsulfatase	Enxofre	80 mg pNF kg ⁻¹ solo h ⁻¹
Hidrólise do DAF	Vários	61 mg fluoresceína kg h ⁻¹

DAF- Diacetato de fluoresceína; pNF - paranitrofenol; TPF - Trifenilformazan.

As enzimas têm participação essencial nos processos relacionados à qualidade do solo e como são sintetizadas, principalmente, pelos organismos que nele crescem, as condições que favorecem a atividade da biota como adubação orgânica, presença de vegetação (rizosfera) e rotação de culturas, também favorecem a atividade enzimática, que, muitas vezes, relaciona-se positivamente com a produtividade ou com a qualidade do solo. Por essa razão e por serem muito sensíveis a mudanças no solo, as enzimas são consideradas bons indicadores de qualidade. Tentativas de estabelecer as relações entre atividade enzimática com índices de atividade biológica e de fertilidade datam dos primórdios da Microbiologia do Solo, quando Lipman (1916) estabeleceu que “o solo é uma entidade biológica e que a baixa produtividade deste é um reflexo de uma máquina microbiológica defeituosa”. A grande dificuldade ainda é estabelecer relações consistentes e definitivas entre as enzimas e taxas de respiração; densidade de microrganismos e suas relações quantitativas com atividade enzimática ou nível de atividade de qual enzima

significam solo de boa ou má qualidade. Parte dessa dificuldade é devida ao fato de que a atividade enzimática é específica para um substrato, e, assim, reflete apenas reações específicas e não processos globais do solo. Mesmo assim, vários índices de atividade têm sido empregados como indicadores de qualidade. Alguns deles são apresentados a seguir:

a) Índice biológico de fertilidade (IBF):

$$IBF = \frac{DH + KCA}{2}$$

em que DH e CA são os valores de atividades da desidrogenases e da catalase respectivamente e K, coeficiente de proporcionalidade. Este índice se relaciona diretamente com C, N e P total em solos aráveis, porém pesquisas adicionais precisam ser realizadas para estabelecer se estas relações têm aplicações agronômicas práticas.

b) Índice de atividade enzimática (IAE):

$$IAE = 0,2 (DH + CA/10 + PA/40 + PR/2 + AM/20)$$

Em que DH, CA, PA, PR e AM são as atividades específicas da desidrogenase, catalase, fosfatase alcalina, protease e amilase respectivamente. É um índice empírico, para o qual têm sido encontrados valores variando de 1 a 4 para solos cultivados e de 2 a 8 para pastagens e florestas. Apresenta boa correlação com C-biomassa, mas tem aplicação ainda muito limitada em estratégias de avaliação biológica do solo.

c) Coeficiente de hidrólise (CH) do diacetato de fluoresceína (DAF):

$$CH = \frac{\text{DAF hidrolisado}}{\text{DAF adicionado}}$$

Valores para CH variam de 0 a 1 e têm-se mostrado sensíveis à interferência no solo. Por exemplo, foram encontrados valores variando de 0,22 a 0,36 para solos que receberam 30 Mg ha⁻¹ de resíduos urbanos; 0,24 a 0,44 para aqueles com 90 Mg ha⁻¹ e, de apenas 0,14, para solo sem resíduo. Esses resultados indicam que a aplicação do resíduo favoreceu e ativou a capacidade decompositora dos heterotróficos do solo; portanto, medem a capacidade de biotransformação do solo.

Embora não haja dúvidas sobre a importância das enzimas para o funcionamento adequado do solo e indicadoras da sua atividade biológica, o uso da atividade enzimática como indicador de qualidade do solo é ainda muito escasso e sem sucesso. Uma das aplicações dos índices de atividade enzimática é no monitoramento ou na avaliação da reabilitação de áreas de mineração ou de solos contaminados conforme estudos realizados em vários países. Como exemplificado na **tabela 4.10**, a atividade da urease e a hidrólise do DAF relacionam-se com o índice de reabilitação de solos de mineração de bauxita. Já a fosfatase ácida não diferiu entre solos em início ou estágio mais avançado de reabilitação. Devido à elevada sensibilidade das enzimas às alterações impostas no solo, elas despertam grande interesse no diagnóstico do impacto de ações antrópicas e no monitoramento da recuperação de áreas degradadas.

Deve-se ter muita cautela ao avaliar o impacto da contaminação do solo, pois isso deve ser realizado empregando parâmetros adequados e sensíveis ao contaminante em estudo. Enquanto a β -glicosidase foi insensível à elevação da concentração de metais pesados no solo, as demais enzimas sofreram grande inibição, indicando deterioração da qualidade funcional (**Figura 4.14**). Em geral, a atividade biológica sofre redução linear em concentrações de metais pesados acima das consideradas críticas no solo. No entanto, essas concentrações ainda não foram estabelecidas.

Tabela 4.10. Atividade enzimática em uma cronossequência de reabilitação de solo de mineração de bauxita em Poços de Caldas (MG) (Carneiro, 2000).

Cronossequência amostrada	Índice de reabilitação	Fosfatase ácida	Urease	DAF*
		$\mu\text{g } \rho\text{NF g de solo}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g de solo}^{-1} \text{ h}^{-1}$	$\text{mg F g de solo}^{-1} \text{ dia}^{-1}$
Mata nativa sem mineração	100	906	13	474
<i>Eucalyptus</i> sp. com 15 anos**	80	897	16	399
Bracatinga com 10 anos**	95	981	18	387
Espécies nativas com 10 anos**	75	873	11	469
Braquiária e guandu com 2 anos**	50	952	5	146
Recém-minerada sem vegetação**	5	11	3	44

* Hidrólise do diacetato de fluoresceína.

** Áreas com diferentes estádios de recuperação.

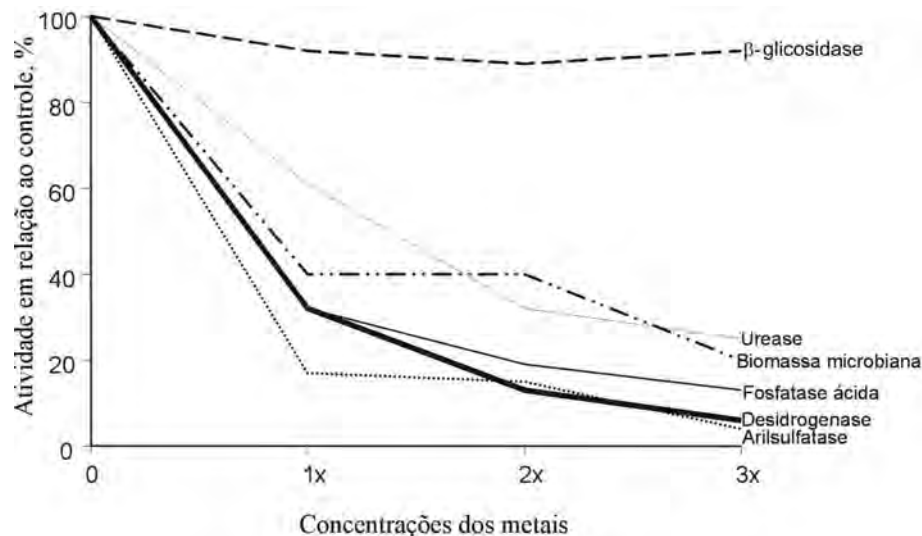


Figura 4.14. Atividade relativa da desidrogenase, β -glicosidase, urease, fosfatase ácida, arilsulfatase e biomassa microbiana em solos contaminados por metais pesados. 1x corresponde a 300, 100, 50, 50 e $3 \mu\text{g g}^{-1}$ de solo para Zn, Cu, Ni, V e Cd respectivamente. (Adaptado de Kandeler et al., 1996.)

4.5. A biomassa microbiana

4.5.1. Aspectos gerais

A fração orgânica do solo é uma mistura complexa de tecidos vivos ou mortos e de substâncias orgânicas ou inorgânicas transformadas ou em seu estado original. São materiais complexos e em constante transformação, mas que podem ser separados em frações com características distintas. Em torno de 98% do carbono orgânico do solo, encontra-se como matéria orgânica morta, principalmente na forma de húmus, enquanto a fração viva geralmente não ultrapassa 1 a 5% do total de materiais orgânicos do solo. Da fração viva de 5 a 10% são raízes; 60 a 80%, microrganismos e de 15 a 30%, componentes da macrofauna. Portanto, a maioria da matéria orgânica viva do solo é protoplasma microbiano, representando a microbiomassa, definida como parte viva da matéria orgânica do solo, composta por todos os organismos menores que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$, representada por fungos, bactérias, actinomicetos, leveduras e representantes da microfauna como os protozoários. É a principal fonte de enzima no solo, sendo assim responsável pela quase totalidade de sua atividade biológica, catalisando as transformações bioquímicas e representando fonte e dreno de C, regulando a troca de nutrientes entre a atmosfera e o ecossistema solo-planta-organismos.

Apesar de representar pequena parte de C orgânico do solo, a biomassa é um indicador sensível de mudanças nesse ecossistema. É formada a partir da decomposição dos materiais carbonáceos depositados no solo e, por isso, a quantidade total e a fração ativa da biomassa são determinadas, em parte, pela quantidade de substrato oxidável incorporada ao solo via raízes (rizodeposição), restos culturais ou qualquer tipo de resíduo orgânico. A biomassa representa o destino inicial de C em transformação no solo e é extremamente influenciada pelos fatores que afetam a densidade e a atividade dos organismos do solo e, em especial, pela disponibilidade de C e nutrientes (N, P e S), umidade do solo, aeração, pH, teor e tipo de argila e textura do solo.

A quantificação da biomassa pode ser realizada por vários métodos, apresentados com mais detalhes no capítulo 3, os quais são baseados em:

- a) estimativas indiretas da contagem do número de organismos e conversão para biovolume;
- b) determinação de constituintes microbianos específicos (macromoléculas, ATP);
- c) taxa de respiração em resposta à adição de fonte de C;
- d) fluxo de CO_2 em amostras submetidas à fumigação e reinfestação;
- e) quantidade de C extraído de amostras fumigadas.

A possibilidade de estimar a quantidade total de biomassa do solo representou um grande avanço metodológico diante das dificuldades e limitações das contagens microbianas em placas com meios seletivos. A biomassa é uma medida da população viva do solo como um todo, apesar de ser uma característica muito dinâmica e, de certo modo, pouco informativa quando interpolada por si só. De acordo com Grisi (1996), a quantificação da biomassa significa:

- a) estimar o potencial microbiano de um solo e sua capacidade de transformação;
- b) quantificar substâncias relacionadas às quantidades de elementos essenciais à vida microbiana, vegetal e animal;
- c) relacionar essas quantidades de microrganismos com formas inorgânicas de interesse agrônômico e ecológico no solo;
- d) relacionar as características acima com qualidade do solo e produtividade agroecológica.

Os valores obtidos para biomassa variam muito com tipo de solo, vegetação e clima, de 90 a 2.300 mg C kg⁻¹ de solo (Van de Werf & Verstraete, 1987), o que equivale a algo próximo de 5.000 kg ha⁻¹. Em solos da Amazônia, sob diferentes sistemas de uso, por exemplo, encontraram-se valores de 765 a 1.287 mg C kg⁻¹ solo (Feigl et al., 1995), o que corresponde de 3 a 4% de C orgânico desses solos. Tais valores proporcionais são relativamente mais elevados que os relatados para solos de clima temperado, os quais, geralmente, situam-se ao redor de 2%. Isso indica que a biomassa representa maior reservatório proporcional da matéria orgânica ativa nos solos dos trópicos que naqueles de clima temperado, sendo, portanto, de grande importância na agricultura tropical. Valores típicos de biomassa do solo relatados para vários ecossistemas são apresentados na **tabela 4.11**. Os menores valores são geralmente encontrados em áreas degradadas pela mineração ou florestas queimadas, áreas sujeitas à inundação (várzea) e solo sob cultivo intensivo ou contaminadas com metais pesados, em comparação com as bem preservadas e com vegetação natural.

Como discutido em referência à figura 4.11, durante a decomposição, parte do carbono e nutrientes fica imobilizada na biomassa, tornando-a rica nesses elementos. A quantidade de carbono residual na biomassa depende da degradabilidade do substrato, variando de 20 a 40% de C dos substratos prontamente assimiláveis, no período de 8 a 12 semanas de decomposição, e proporção bem menor para os substratos com baixa degradabilidade (**Tabela 4.12**). Enquanto até 80% de C de substratos prontamente assimiláveis são liberados como CO₂, apenas 20% de C da lignina são perdidos nessa forma, após um ano de decomposição. Essa última, portanto, se converte menos em biomassa, permanecendo recalcitrante no solo. É importante entender a sucessão trófica que acontece na biodegradação dos materiais orgânicos no solo. As populações microbianas consomem rapidamente o substrato oxidável e morrem, tornando-se substrato para diferentes populações que também usam outros substratos menos prontamente assimiláveis, oriundos do resíduo original ou da síntese microbiana. Desse modo, quando não há novas adições de resíduo, há uma sucessão no sentido de especialização metabólica para microrganismos com capacidade de utilizar resíduos mais estáveis quimicamente, e a biomassa muda quantitativamente, supondo que sua qualidade ou composição seja também alterada.

A quantidade de biomassa encontrada no solo é, de certo modo, em determinado tempo, relacionada à quantidade de carbono que ele recebe. Ela é favorecida em solos com vegetação, naqueles com teores mais elevados de argila ou sob cultivo mínimo e, geralmente, baixa nos solos cultivados, nos arenosos ou nos degradados pela erosão ou por contaminação com substâncias orgânicas tóxicas ou metais pesados. Nos estudos clássicos realizados na estação experimental de Rothamsted, na Inglaterra, verificou-se que solos de gramíneas nativas têm quase duas vezes mais C na biomassa que aqueles adjacentes submetidos ao cultivo com cereais. Fato semelhante foi verificado na Índia, onde solos sob floresta

Tabela 4.11. Exemplos de valores de biomassa microbiana determinada pelo método da fumigação-extração (FE) em diferentes ecossistemas.

Ecossistema/Local/Solo	Biomassa-C no solo	Referência
Floresta/Mata		
Amazônia – vários tipos de solos	463-817	Pfenning et al., 1992
Piracicaba (SP)/LV e Paulo de Faria (SP)/TR	428-798	Pfenning et al., 1992 ; Marchiori-Júnior & Melo,1999
Mata recém-queimada - Amazônia/LVd	109	Pfenning et al., 1992
Nova Zelândia	202-422	Sparling et al., 1993
Vários solos da Nigéria	359-409	Wick et al., 1998
Mata de serra – Poços de Caldas (MG)/Cd	750-1600	Carneiro, 2000
<i>Eucalyptus robusta</i> e <i>Pinus</i> – Viçosa (MG)/LV	215-225	Gama-Rodrigues et al., 1997
Pastagem e culturas		
Amazônia/LAd (1 ano)	572	Pfenning et al., 1992
Paragominas (PA)/LVd (4 anos)	754	Geraldes et al., 1995
Paragominas (PA)/LVd (15 anos)	203	Geraldes et al., 1995
Vários solos de (SP)/TR (20-25 anos)	363-402	Marchiori-Júnior & Melo,1999
Nova Zelândia	365-422	Ross, 1990
Várias culturas da Amazônia (AM)/Glei	175-283	Pfenning et al., 1992
Algodão e Hortaliças (SP)/TR e Itaguaí (RJ)/PVd	104-143	Marchiori-Júnior & Melo,1999
Área degradada		
Área minerada e sem vegetação de Poços de Caldas (MG)/Cd	60	Carneiro, 2000
Área minerada plantada com <i>Eucalyptus</i> (15 anos); Poços de Caldas (MG)/Cd	150	Carneiro, 2000
Solo contaminado com metais pesados - Três Marias (MG)/LV	99-140	Dias-Júnior et al., 1998
Solo contaminado com metais pesados e com vegetação - Três Marias (MG)/LV	92-725	Dias-Júnior et al., 1998

Tabela 4.12. Taxa de incorporação de substrato orgânico na biomassa microbiana (Kassim et al., 1981).

Substrato	Proporção de C residual na biomassa
- Substrato prontamente assimilável (ex: glicose, acetato, piruvato)	20 a 40%
- Aminoácidos, uracil e citosina	6 a 25%
- Celulose, glicosamina, proteína e polissacarídeos	10 a 30%
- Células microbianas e resíduos vegetais (palha)	2 a 13%
- Melanina (pigmento dos fungos)	0,2 a 1,3%

que apresentaram biomassa-C de 816 mg kg⁻¹ de solo, enquanto em solos adjacentes cultivados tinham apenas 344 mg kg⁻¹ (Basu & Behera, 1993), portanto, uma redução de quase 60% na quantidade de C-biomassa. Em uma mata do Sudeste (Poços de Caldas, MG), a biomassa C atingiu 1.600 mg C kg⁻¹ solo, enquanto em área adjacente submetida à mineração de bauxita esses valores caíram para cerca de 60 a 150 mg C kg⁻¹ solo. Na Amazônia, solos sob floresta apresentam biomassa variando de 463 a 817 mg kg⁻¹, enquanto em pastagens de gramíneas tais valores se situam entre 203 e 754 mg C kg⁻¹ de solo (Tabela 4.11). Geralmente, em solos ácidos sob florestas encontram-se baixos valores de biomassa, indicando condição adversa ao crescimento microbiano.

Solos sob cultivo mínimo, como no sistema plantio direto na palha, apresentam maior quantidade de biomassa que aqueles sob preparo intensivo. No Paraná, solos sob plantio direto atingiram biomassa 50% mais elevada que os sob cultivo convencional, enquanto, nas regiões temperadas, essas diferenças são da ordem de apenas 10% (Hungria, 1996; Siqueira et al., 1994). O sistema de cultivo que revolve o solo exerce grande impacto quantitativo na população microbiana.

4.5.2. Atividade catalisadora

Como a biomassa microbiana catalisa transformações bioquímicas essenciais à qualidade do solo e funcionalidade do ecossistema com enormes reflexos nos processos globais, torna-se importante conhecer, além da quantidade da biomassa, sua fração ativa. A proporção da população do solo, biologicamente ativa, ainda não pode ser avaliada com precisão por falta de procedimentos adequados para isso. Segundo Mac Donald (1986), apenas de 15 a 30% da população são catabolicamente ativas no solo. Em alguns casos, como em solos ácidos, a atividade dos fungos pode atingir 80% de atividade, mas geralmente com valores médios em torno de 50%. Isso indica que os microrganismos do solo ocorrem predominantemente em formas inativas ou latentes, com baixa atividade metabólica. Através do uso de inibidores específicos, como o bactericida estreptomina, que inibe a síntese protéica no ribossomo 70S e o fungicida ciclohexamida, que atua no ribossomo 80S, tem sido possível estimar a participação relativa de fungos e bactérias ativos na biomassa. Segundo dados apresentados por Coleman (1994), os fungos

representam de 700 a 2.700 kg de biomassa seca ha^{-1} , tem tempo de geração de 4 a 8 horas e nível de atividade apenas de 2 a 10%. As bactérias contribuem com 500 a 750 kg ha^{-1} , tem tempo de geração 0,5 h e atividade variando de 15 a 30%. A microfauna contribui com menos (50 kg ha^{-1}), tempo de geração mínima de duas a quatro horas e atividade pouco conhecida, porém muito variável entre diferentes grupos. O restante da fauna representa de 25 a 50 kg ha^{-1} , tendo atividade muito inconstante e longo tempo de geração, podendo atingir 720 horas. Devido a esse comportamento diferenciado dos grupos que compõem a microbiota, a constituição da biomassa varia com o solo e com as condições ambientais. Variações na atividade da biomassa podem ser reflexos das contribuições relativas de cada grupo de microrganismo que a compõem em determinado momento e condições. Considerando os processos do solo, o que mais interessa é a atividade microbiológica total, que é baseada em análises cinéticas da respiração quando o solo é incubado em forma natural ou por meio da adição de fonte de C prontamente oxidável. Empregando essas técnicas, os estudos de Van de Werf & Verstraete (1987) indicaram que a atividade da biomassa variou de 4 a 49%, dependendo das condições do solo.

É também de fundamental importância conhecer quanto consome a biomassa para manter sua atividade biológica. A absorção de O_2 induzido pela adição de glicose e a biomassa ativa apresentam alta relação, confirmando que uma parcela significativa da população ativa é aeróbica. Em solos da Alemanha, com biomassa total variando de 90 a 2.300 mg kg^{-1} de solo, a biomassa ativa é em média 23% (Van de Werf & Verstraete, 1987). Em outro estudo em campos de trigo na Bélgica, com biomassa total de 1.139 mg kg^{-1} de solo em pousio e 856 mg kg^{-1} no solo sob cultivo, a biomassa ativa foi de 132 mg kg^{-1} (12%) e 116 mg kg^{-1} (13%) respectivamente. No mesmo solo, verificou-se que a biomassa total foi de 774 mg kg^{-1} de solo, quando não se aplicou N e de 1.000 quando se aplicaram 160 kg N ha^{-1} na cultura do trigo. A biomassa ativa foi de 201,2 mg kg^{-1} (26%) a 86,7 mg kg^{-1} (8%) respectivamente. Portanto, a biomassa total da camada arável foi favorecida pela aplicação de N, enquanto sua fração, que é ativa, sofreu grande redução. As razões para esse comportamento não são ainda conhecidas. Sabe-se que a biomassa ativa é um reflexo da deposição de C-oxidável e, por isso, o manejo da cultura e dos restos culturais tornam-se importantes fatores na atividade da biomassa.

Visando dar um enfoque mais interpretativo e estabelecer relações mais dinâmicas entre biomassa e atividade, Anderson & Domsch (1990) propuseram uma medida de atividade metabólica específica, denominada *quociente metabólico* ($q\text{CO}_2$). Este corresponde à liberação de CO_2 por unidade de biomassa por certo tempo ($\text{C-CO}_2/\text{C-mic h}^{-1}$), o que corresponde a um índice de atividade heterotrófica específica da biomassa. Em estudo com vários solos da Alemanha, esses autores verificaram que aqueles sob monocultura prolongada apresentaram $q\text{CO}_2$ médio de 10,97 mg C- CO_2 mg C-mic $^{-1}$ h $^{-1}$, sendo estatisticamente superior ao valor encontrado para solos sob sistema de rotação de culturas com média de 6,45. Esse resultado tem sido confirmado em solos de outras regiões e indica que a população dos solos de monocultura tem necessidade energética mais elevada para manutenção do que aquela de solos sob rotação, que parece não estar submetido a estresse. Solos sob interferência antrópica apresentam mudanças na composição e atividade dos microrganismos e atividades metabólicas específicas mais elevadas, devido ao estresse da população. Um exemplo da situação é mostrado na **figura 4.15**, na qual se verifica que num solo poluído com metais pesados houve grande redução na biomassa microbiana, densidade de fungos e bactérias e na atividade enzimática e elevação do $q\text{CO}_2$ em relação ao solo adjacente sem

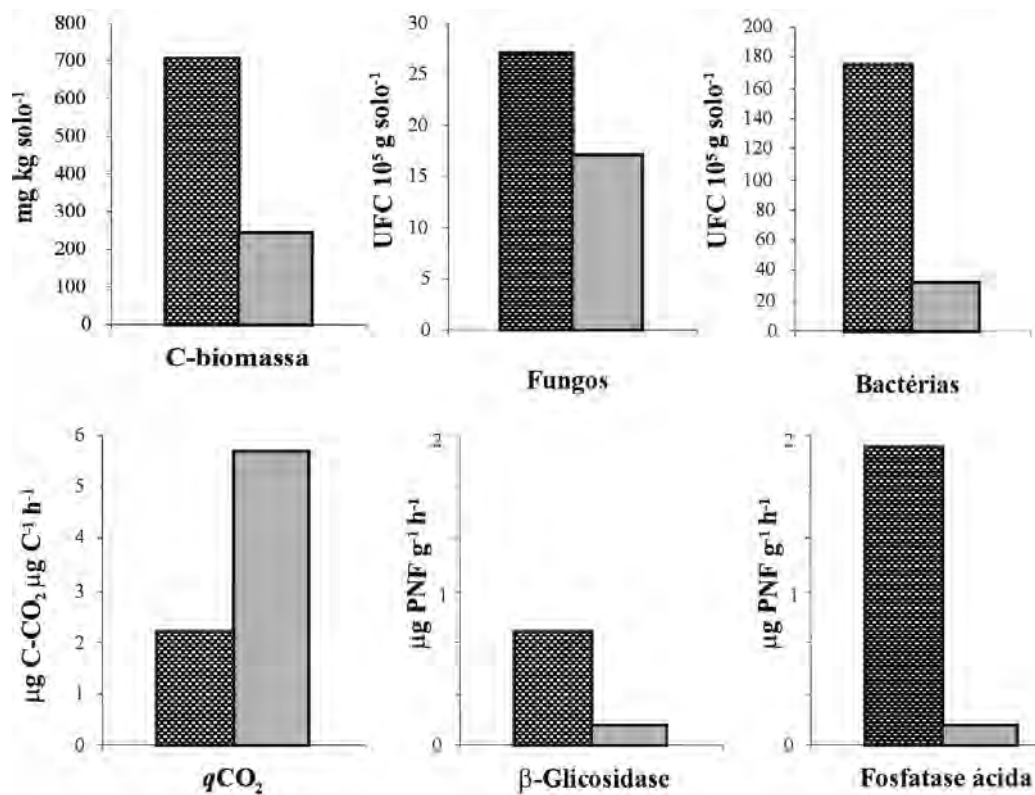


Figura 4.15. Biomassa microbiana, densidade de fungos e bactérias, atividade da β -glicosidase, fosfatase ácida e atividade da biomassa (qCO_2) em solo contendo excesso de metais pesados (2ª coluna) em relação a solo adjacente não contaminado (1ª coluna). (Kuperman et al., 1997; Dias-Júnior et al., 1998.)

contaminação. De fato, no presente estudo, os valores de qCO_2 correlacionaram-se positivamente com os teores de Cd, Zn e Cu no solo, confirmando a situação de estresse imposta pelo excesso de metais aos microrganismos do solo, que embora em menor quantidade consomem mais energia para manutenção. O excesso de metais pesados pode inibir a atividade heterotrófica dos microrganismos do solo. Um estudo de Dai et al. (2004) mostrou que a respiração do solo reduziu exponencialmente com a elevação nos teores de Zn, sendo a inibição muito acentuada em solos com até 300 mg kg⁻¹ de Zn (redução da ordem de 50%). Exemplos como esses são comuns para vários outros metais. As condições ambientais também influenciam a biomassa e sua atividade. O qCO_2 geralmente aumenta com a elevação da temperatura. Segundo Insam (1990), solos de clima mais quente têm respiração mais elevada (0,3 mg CO₂ g⁻¹ de solo h⁻¹) quando comparados com aqueles de clima mais frio (0,1 mg CO₂ g⁻¹ de solo h⁻¹).

Outro parâmetro estabelecido no estudo de Anderson & Domsch (1990) foi o quociente da taxa de mortalidade (qD). Eles encontraram valores de $3,0 \times 10^{-4}$ (mg C perdido mg C microbiano⁻¹ h⁻¹) para solos de monocultura e $1,9 \times 10^{-4}$ para solos sob rotação. Portanto, a microbiota do solo da monocultura tem maior mortalidade em função de algum tipo de estresse e, por isto, gasta mais energia para se manter.

Em outros estudos, os valores de q_D variaram de 4,4 a 20×10^{-3} mg C perdido mg C microbiano⁻¹ h⁻¹, indicando que, nas condições estudadas, as bactérias têm maior taxa de mortalidade que os fungos no solo.

A manutenção da cobertura vegetal do solo, uso de corretivos e fertilizantes, especialmente N e P, para eliminar limitações severas do solo e desbalanços nutricionais contribuem para elevar sua massa viva. Mudanças na quantidade de N-biomassa podem também ocorrer, como em solo de cerrado sob plantio direto, em Sete Lagoas, onde N-biomassa atingiu 108 mg N kg⁻¹ de solo no plantio direto e apenas 50 mg N kg⁻¹ no convencional (Fernandes et al., 1998). Efeitos semelhantes foram também relatados para solos de outras regiões, como no Rio Grande do Sul (Vargas & Scholles, 1998). Esses resultados indicam que a aplicação de N no solo não resulta em enriquecimento de N na biomassa, que tem valor relativamente constante para esse elemento, mas as condições de uso do solo podem alterar a quantidade de biomassa e de nutrientes nela contida. Em solo cultivado com *Brachiaria decumbens*, Guerra et al. (1995) verificaram que a adubação com superfosfato triplo não interferiu na biomassa total do solo, mas elevou seu teor de P de 10,6 no tratamento controle para 21,2 mg kg⁻¹ de biomassa no solo adubado com superfosfato. Os autores verificaram, também, um estreitamento na relação C/P da biomassa, sugerindo que a aplicação de P no solo resulta em enriquecimento da biomassa nesse nutriente, sendo, portanto, contrário ao que ocorre para o N. A possibilidade de enriquecer a biomassa em P é de grande relevância para a dinâmica do nutriente nos solos tropicais, onde se verifica sua elevada capacidade de retenção na fração mineral desses solos, reduzindo sua disponibilidade para as plantas. Maior teor de P na biomassa significaria sua maior disponibilidade para as plantas.

O fluxo dos elementos e de energia no solo depende essencialmente da deposição (quantidade e qualidade) de substrato e da capacidade catalítica da biomassa. Essa relação pode ser descrita, segundo Smith & Paul (1990), pelo modelo cinético das mudanças no substrato, conforme equação a seguir, embora a capacidade catalisadora da biomassa seja extremamente dinâmica.

$$\frac{dS}{dt} = -K(B)[S]$$

Pela equação acima, a quantidade de substrato S no tempo t é relacionada à capacidade catalítica da biomassa (B) e concentração de substrato [S]. Como mencionado, a população do solo é geralmente limitada pelo carbono ou substrato, assim a prioridade do fluxo de energia é para atender aos requerimentos da manutenção da população. A energia de manutenção é requerida para funções celulares internas que todo organismo precisa para conservar suas funções bioquímicas. No solo, isso é complicado porque, como discutido, apenas parte da população é ativa em determinado tempo e, assim, o requerimento muda. Smith & Paul (1990) empregaram o conceito da equação de manutenção para estimar os gastos energéticos da população microbiana do solo, sendo este expresso pela equação

$$m = a \cdot \frac{t}{y}$$

em que m é o coeficiente de manutenção do substrato ou C total usado para assimilação e manutenção. Em se tratando de fluxo de C, interessa estimar m ; a é a taxa específica de manutenção (de 0,002 a 0,0003 h^{-1}) e y a assimilação do C-substrato. Segundo o exemplo apresentado por esses autores, para um solo com 570 kg ha^{-1} de C-biomassa, assumindo 40% da biomassa ativa e taxa específica de manutenção de 0,0003 h^{-1} , e $y=0,6$ seriam necessários 1.748 $\text{kg de C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para manter a comunidade microbiana existente. Se a quantidade de C depositada for de 1.200 $\text{kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, não seria suficiente para manter a população, que terá que ser reduzida em sua atividade ou consumirá o C residual do solo, que, geralmente, não é substrato de boa qualidade para os microrganismos, pois é composto de substâncias quimicamente estáveis, geralmente de baixa degradabilidade. Em situações como essa, haverá redução da biomassa do solo. Segundo os cálculos dos autores, a quantidade anual de substrato para manter a população microbiana pode atingir 43 Mg ha^{-1} , indicando que, para conservar o nível atual de biomassa, é necessário que a quantidade de C-oxidável depositada seja maior ou igual à demanda para sua manutenção. A biomassa microbiana global contém um estoque de apenas 6,0 Gt de C e 0,9 Gt de N (Tabela 4.6), mas estima-se que são necessários 37 Gt de C e 2,9 Gt de N (Gt - gigatons, 1Gt = 10^{15} g) para atender à demanda global da biomassa microbiana do solo. No entanto, a deposição de N é estimada em apenas 1,1 Gt, havendo enorme déficit desse elemento no balanço global da manutenção da biomassa do solo.

Os microrganismos, além de conterem elevados teores de C, são ricos em N, P, S e K, comparativamente aos tecidos vegetais e seus resíduos no solo, e isso reflete no estoque de nutrientes na biomassa. A quantidade de C e N na biomassa varia de 110 a 2.240 kg ha^{-1} para o C e de 40 a 496 kg ha^{-1} para N, dependendo do ecossistema. As quantidades típicas de nutrientes na biomassa da camada arável do solo são, em kg ha^{-1} de: 101 a 108 de N; 78 a 83 de P; 68 a 70 de K, e 9 a 11 de Ca (De-Polli et al., 1996; Anderson & Domsch, 1990), podendo atingir 2.200, 500, 83 e 23 kg ha^{-1} de C, N, P e S respectivamente (Smith & Paul, 1990). A quantidade de C-biomassa corresponde ao peso de vários bois ha^{-1} ; ironicamente a maioria das pastagens suporta, em média, apenas 1 boi $\text{ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Isso dá uma idéia da dimensão da biomassa do solo, muitas vezes ignorada nas estratégias de manejo agrícola do solo. Não há dúvidas de que a biomassa é um importante reservatório "lábil" de nutrientes no solo que se recicla muito rapidamente, tornando-os disponíveis para as plantas. Segundo Smith & Paul (1990), uma cultura de trigo que gera 16 Mg ha^{-1} de matéria seca total e produzindo 6,7 Mg ha^{-1} de grãos, absorve 302, 36 e 32 kg ha^{-1} de N, P e S respectivamente. Após a decomposição dos restos culturais, 180, 17 e 9 kg ha^{-1} desses nutrientes são encontrados na biomassa microbiana, correspondendo a 60, 47 e 28% do requerimento de N, P e S da cultura. Quando a biomassa é ativa, portanto, representa importante recurso natural do ecossistema, sendo capaz de reciclar quantidade significativa dos nutrientes exigidos pela cultura. Existem situações em que a biomassa possui reservas maiores de P e S do que é exigido pelas culturas e sua capacidade de fornecer nutrientes às plantas relaciona-se a princípios básicos da mineralização e imobilização (M/I), os quais serão discutidos adiante. No âmbito funcional da biomassa, devem-se destacar três aspectos fundamentais e dinâmicos importantes, a saber:

- a) a biomassa é importante fonte e dreno de nutrientes no solo e, assim, regula o fluxo desses;

b) a decomposição da matéria orgânica e a síntese da biomassa ocorrem simultaneamente, de modo dinâmico e sucessional;

c) o reservatório de nutrientes da matéria orgânica é muito heterogêneo (em termos de atividade = suscetibilidade a transformações via microbiota); por isso, nem sempre a quantidade total de matéria orgânica no solo se relaciona com a disponibilidade de nutrientes para as plantas.

Diferenças nos processos de transformação do C e nutrientes em solos de clima temperado e tropical são evidentes e, em geral, dez vezes mais rápidos nos trópicos. Se, por um lado, os nutrientes reciclam mais rapidamente nessas condições, por outro, eles exigem manejos mais cuidadosos para evitar seu rápido esgotamento no solo. Caso a matéria orgânica seja exaurida, ocorrerá a degradação do solo, como de fato tem sido verificado na agricultura tropical. Estimativas indicam que do total de C e N da biomassa microbiana do planeta, cerca de 26 e 23% deste reservatório se encontra nas florestas tropicais, onde a biomassa é muito ativa, reciclando-se rapidamente de duas a cinco vezes ano⁻¹. Estudos de biocinética indicam que o tempo médio de reciclagem dos materiais orgânicos e da biomassa microbiana é de 22 e 2,5 anos em solos cultivados com trigo na Inglaterra, e de 2 e 0,2 ano em solos com cana-de-açúcar no nordeste do Brasil (Paul & Vonery, 1984). Embora a contribuição atual da biomassa para a elevação do C-CO₂ atmosférico seja da ordem apenas de 2,2%, interferências antrópicas que causam modificações na quantidade e atividade da biomassa são importantes para mudanças globais de clima em vista de sua relação com a elevação do CO₂ atmosférico e com a sustentabilidade dos ecossistemas.

BIBLIOGRAFIA

BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1990. v.6, 565p.

BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1993. v.8, 418p.

BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 2000. v.10, 519p.

METTING JR., F.B. **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1992. 648p.

MITCHELL, M.J.; NAKAS, J.P. **Microfloral and faunal Interactions in natural and agro-ecosystems. Netherlands: developments in biogeochemistry**. Netherlands: Nijhoff, M and Dr. Junk, W. Publishers, 1986. 505p.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. California: Academic Press, 1996. 340p.

SIQUEIRA, J.O. **Biologia do solo**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1993. 230p.

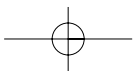
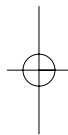
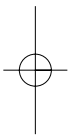
SIQUEIRA, J.O. **Microorganismos do solo e seus processos: irrelevantes para a produtividade agrícola?** In: MONIZ, A.C.; FURLANI, P.R.; FREITAS, S.S. A responsabilidade social da Ciência do Solo, Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1988. p.387-352.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Microorganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142 p.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and Applications of Soil Microbiology**. New Jersey: Simon & Schuster, 1998. 550p.

VAN-ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. **Modern Soil Microbiology**. New York: Marcel Dekker, 1997. 683p.

WAID, J.S. Biological and biochemical analysis of soils. **Plant and Soil**, v.76, p.127-137, 1984.



Capítulo 5

Matéria Orgânica do Solo

5.1. O solo como receptáculo e componente biotransformador

O solo é o receptáculo final dos resíduos orgânicos de origem vegetal, animal e dos produtos das suas transformações. Como já abordado no capítulo anterior, a vegetação é a principal responsável pela deposição de materiais orgânicos no solo, especialmente através da queda de material morto do dossel, e de restos culturais (necromassa) formando a serrapilheira ou res-teva e da rizodeposição no solo próximo às raízes. O tipo de vegetação e as condições ambientais são os fatores determinantes da quantidade e da qualidade do material que cai no solo, determinando também sua heterogeneidade. Em florestas tropicais, a quantidade de material vegetal que cai do dossel, formando a serrapilheira, atinge várias toneladas por ha ano⁻¹, contendo quantidades variadas de nutrientes (em kg ha⁻¹) como: 74 a 156 de N; 1,4 a 4,1 de P; 2,0 a 4,2 de Ca e 1 a 27 de Mg, conforme compilado por Correa & Andrade (1999), que discutem com mais profundidade esse tema.

Além de conter grandes quantidades de carbono, nutrientes e energia, o conjunto “serrapilheira-solo” faz a comunicação entre o solo e a vegetação, constituindo um *habitat* onde ocorre abundante fauna e comunidade microbiana heterotrófica. O estoque de serrapilheira é regulado pela quantidade de material que cai e pela sua decomposição na superfície do solo. Por exemplo, em uma floresta tropical em que são depositados 10,5 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de matéria seca, encontram-se apenas 3,2 Mg ha⁻¹ de serrapilheira na superfície, enquanto numa de clima temperado, onde são depositados apenas 4,0 Mg ha⁻¹ ano⁻¹, encontram-se 8,4 Mg ha⁻¹ de serrapilheira. A razão entre a quantidade de necromassa que cai do dossel e a que é encontrada na superfície (serrapilheira ou manta) denomina-se coeficiente *K*, e mede a taxa de desaparecimento ou o tempo de renovação dessa camada. Para os exemplos citados, fazendo-se as respectivas divisões, têm-se valores de *K* de 3,3 para a floresta tropical e de 0,5 para a temperada. Em condições tropicais, geralmente os valores de *K* são maiores que 1,0, o que indica a renovação completa dos resíduos a cada ano. Já em clima temperado, ocorre o contrário, ou seja, os valores de *K* são menores que 1,0, podendo chegar a 0,1 em florestas de coníferas, indicando que a renovação nessas últimas é muito lenta; por isso, ocorre acúmulo do material orgânico na superfície, formando o manto florestal que pode atingir metros de espessura. Gama-Rodrigues (1997) relata valores de *K* para serrapilheira de 1,62 a 0,41 para várias coberturas florestais brasileiras.

Tais variações ocorrem em função da vegetação, principalmente da espécie dominante e das condições edafoclimáticas do ecossistema.

Inúmeros outros tipos de materiais orgânicos são depositados no solo, onde são transformados na superfície ou são incorporados no perfil do solo, passando a fazer parte de sua matriz, constituindo, tipicamente, a matéria orgânica do solo (MOS). Os materiais vegetais são componentes importantes dos ecossistemas, apresentando natureza variada e complexa. São constituídos por celulose que representa de 20 a 50% da matéria seca, hemicelulose de 10 a 30%, lignina de 5 a 30%, proteínas de 2 a 15% e substâncias solúveis até 10%, além de outros constituintes como: ceras, graxas, pigmentos e outros compostos em menores quantidades. Esses componentes sofrem alterações diferenciadas no solo: alguns, como celulose e hemicelulose, são degradados rapidamente, diminuindo-se suas porcentagens em relação ao material originalmente depositado, enquanto o de lignina aumenta pela sua recalcitrância e as proteínas se acumulam em vista da formação de tecidos microbianos (biomassa), ricos nessas substâncias. Enquanto os teores de celulose e hemicelulose no solo são geralmente menores que 10%, os de lignina atingem 45% e, os de proteína, até 30%.

Apesar das incontáveis diferentes formas e tamanhos de organismos que habitam o solo, sua atividade decompositora é dominada pelos organismos microscópicos (fungos, bactérias e microfauna), considerados consumidores primários e caracterizados pela elevada atividade respiratória. Por isso, são os principais componentes da biota do solo responsáveis pela decomposição. No exemplo apresentado na **figura 5.1**, os fungos e as bactérias são responsáveis por 96% da respiração total do solo, enquanto a fauna contribui apenas com 4%. Em outro estudo, num solo agrícola sob cultivo mínimo, Beare et al. (1990) verificaram que a quantidade total de C respirado foi de 7,5 Mg ha⁻¹ (750 g m⁻²) em 182 dias, sendo as bactérias responsáveis por 63% do carbono respirado, enquanto os fungos e protozoários apenas 25%, atingindo 88% da respiração total. Nesse estudo, componentes da mesofauna tiveram contribuição muito baixa (<0,5%), enquanto as minhocas contribuíram com 11%, que se reduziu para 3,5% em solo adjacente sob cultivo convencional. Assim, a respiração do solo é um processo crucial ao funcionamento dos ecossistemas e reflete a intensidade dos processos degradativos, servindo de indicador da dinâmica de C. No entanto, deve-se entender que a respiração microbiana não é única no solo (**Figura 5.2**). A fauna invertebrada e as raízes contribuem também para a emissão de CO₂ desse componente do ecossistema. Por essa capacidade, o solo é considerado um grande incinerador biológico; uma máquina biotransformadora operada pelos organismos que nele se proliferam (**Figura 5.3**). Isso o torna um importante regulador de processos globais, atuando nas trocas gasosas e fluxos de nutrientes nos sistemas solo-vegetação-atmosfera. Neste capítulo serão discutidos principalmente aspectos da decomposição e mineralização de substâncias orgânicas no solo e, para uma abordagem mais completa, assim como para outros tópicos sobre a MOS, recomenda-se consultar o livro editado por Santos & Camargo (1999).

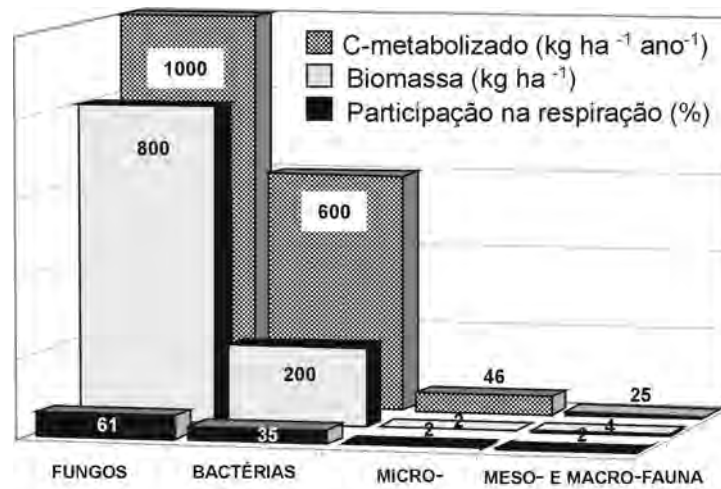


Figura 5.1. Atividade catabólica relativa e contribuição para a biomassa de componentes da biota do solo. (Dados de Persson et al., 1980.)



Figura 5.2. Interpretação diagramática da respiração como indicador de processos biológicos e qualidade do solo.

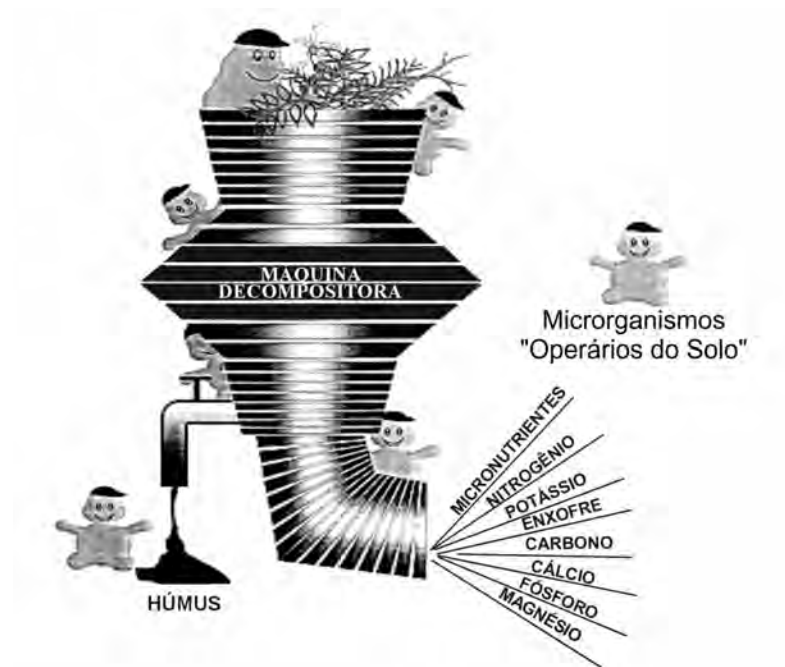


Figura 5.3. Visão esquemática do solo como uma máquina decompositora. (Cortesia de J. Moreira.)

5.2. Decomposição da matéria orgânica

Na decomposição dos materiais orgânicos no solo, os microrganismos atuam como transformadores, enquanto os macrorganismos, representados especialmente por invertebrados macroscópicos, atuam como reguladores (engenheiros) do processo. Desse modo, seres micro e macroscópicos atuam de modo interativo formando uma intensa cadeia trófica onde os reguladores têm a função de trituradores dos materiais orgânicos, atuando também como predadores e parasitas, enquanto fungos, bactérias e actinomicetos são essencialmente decompositores primários (**Tabela 5.1**). Desse modo, há formação de uma verdadeira rede de alimentação (*foodweb*) que tem os representantes da macrofauna no nível trófico mais alto na cadeia e, em sua base, as plantas como produtores primários, seguidas pelos microrganismos que são os decompositores primários (**Figura 5.4**). A energia e os nutrientes se movem do solo e da atmosfera para as plantas e seguem um contínuo alimentar que vai dos microrganismos heterotróficos ao nível trófico mais elevado do ecossistema, como os ácaros predadores, pássaros e mamíferos.

Tabela 5.1. Categorização funcional dos organismos envolvidos na cadeia trófica decompositora de materiais orgânicos no solo e serrapilheira

Grupo funcional	Organismos	Predadores/parasitas
Trituradores.	Coleópteros, ácaros, crustáceos, lepidópteros, formigas, miriápodes, quilópodos.	Aranhas, coleópteros, ácaros e outros (predadores).
Trituradores/ decompositores.	Colêmbolas, miriápodes, coleópteros, dípteros, ácaros, minhocas, enquitrídeos, fungos, bactérias e actinomicetos.	Aranhas, coleópteros, ácaros e nematóides (predadores).
Decompositores/ trituradores.	Fungos, bactérias, actinomicetos, colêmbolas, enquitrídeos, minhocas.	Nematóides, protozoários, ácaros e colêmbolas (micropredadores).
Apenas decompositores.	Fungos, bactérias, actinomicetos.	Protozoários, nematóides, ácaros, colêmbolas, fungos e bactérias (micropredadores e parasitas).

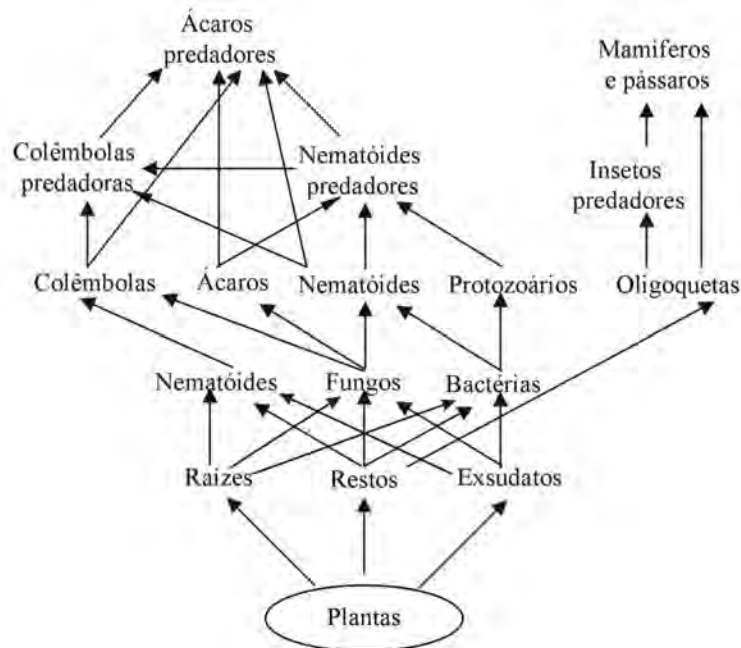


Figura 5.4. Representação das interações tróficas na superfície do solo e abaixo desta, mostrando uma rede de alimentação simplificada em sistemas com a presença de plantas.

Decomposição é a quebra do material orgânico particulado, geralmente na forma de polímeros, em materiais solúveis que são absorvidos pelas células microbianas. A decomposição não é um processo simples ou estático, ocorrendo em fases que podem ser identificadas e descritas conforme **tabela 5.2**. Ocorrida a trituração (particularização) dos materiais pelos macrorganismos, os microrganismos colonizam-nos, decompondo-os em seqüência e estádios temporais conforme ilustrado na **figura 5.5**. Isto ocorre em função do grau de degradabilidade do resíduo que é relacionado à sua quantidade relativa de diferentes substratos ou componentes químicos. Os substratos são classificados em função do grau de assimilabilidade e persistência como apresentados na **tabela 5.3**. A fração composta por substratos prontamente decomponíveis transforma-se rapidamente em CO₂ e biomassa. Em seguida, são transformados os componentes químicos mais resistentes e a própria fração da nova biomassa morta (Figura 5.5). O processo prossegue podendo durar meses ou anos até a completa degradação e mineralização dos constituintes orgânicos, com a produção de grande quantidade de CO₂, formação de húmus e biomassa.

Tabela 5.2. Fases da decomposição dos resíduos orgânicos no solo com serrapilheira (Burns & Martin, 1986).

Fases	Principais aspectos funcionais
- Redução do tamanho das partículas.	Fauna do solo promove a fragmentação. Ocorre pouca ou nenhuma decomposição nesta fase.
- Ataque microbiano inicial.	Substâncias mais facilmente decompostas (proteínas, amido e celulose) são atacadas por fungos e bactérias esporulantes, formando biomassa e liberando NH ₃ , H ₂ S, CO ₂ e ácidos orgânicos.
- Ataque microbiano intermediário.	Subprodutos orgânicos e tecidos microbianos são atacados por uma variedade de microrganismos, produzindo nova biomassa, e acentuam-se as perdas de C-CO ₂ .
- Ataque final	Decomposição gradual dos componentes mais resistentes, como lignina, por actinomicetos e fungos especialistas.

A decomposição é um processo biocatalítico complexo que envolve a ação das enzimas específicas que produzem monômeros específicos em função da composição do substrato atacado (**Tabela 5.4**). Dependendo de sua composição, determinado resíduo pode precisar da atividade simultânea de várias enzimas que atacam substâncias específicas que constituem os substratos. As transformações dos carboidratos, principais componentes dos vegetais, exemplificam bem a conseqüência da decomposição, pois representam de 50 a 70% dos tecidos vegetais e são responsáveis apenas por 5 a 20% da MOS. Na decomposição, ocorrem perdas e transformações acentuadas nesses componentes no solo, como já

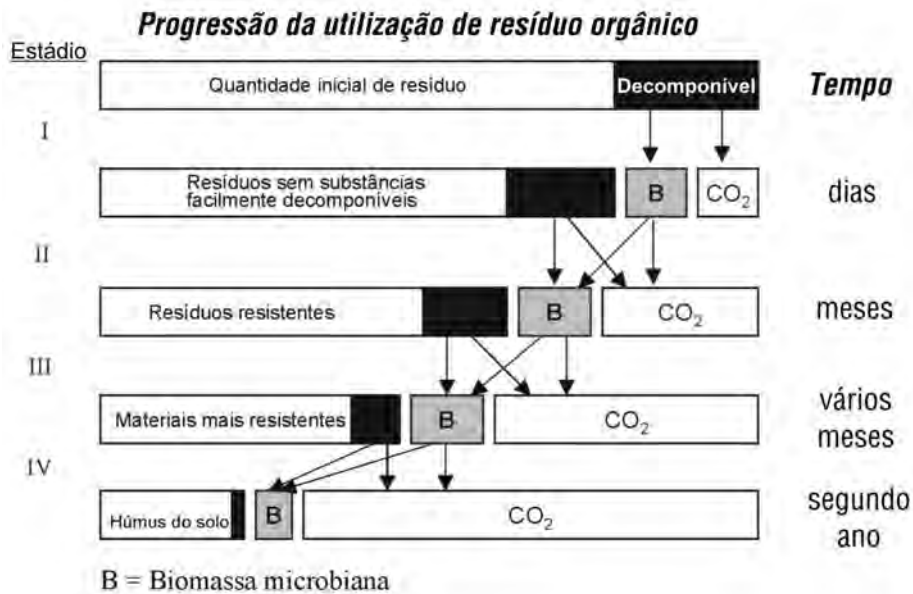


Figura 5.5. Seqüência de estádios da decomposição de resíduos orgânicos, produção, dinâmica e ciclagem da biomassa microbiana no solo (modificado de Stevenson, 1986). Estádio I – Decomposição do material prontamente decomponível; II – Decomposição da celulose e outros carboidratos e início da mineralização da biomassa; III – Continua a decomposição da celulose e da biomassa e inicia-se o ataque à lignina; IV – Estádio sucessivo: biomassa diminui e acumula húmus no solo.

Tabela 5.3. Classificação dos substratos naturais quanto à degradabilidade microbiana e persistência no solo.

Grau de assimilabilidade	Grau de persistência	Exemplos de substratos
Prontamente assimiláveis.	Não persistente.	Glicose, frutose, manose e outras hexoses, xilanose e outras pentoses, sacarose, maltose, celulose, e outros dissacarídeos, ácidos orgânicos e ácidos graxos.
Pronta a moderadamente assimiláveis.	Não persistente a moderadamente persistente.	Amido e polímeros vegetais de glicose e frutose, glicogênio, hemicelulose, ácidos urônicos, pectinas, lipídeos, complexos de glicerol e ácidos graxos, peptídeos e proteínas não queratinizadas.
Assimilação lenta a muito lenta (difícil decomposição).	Persistente a muito persistente.	Celulose microfibrilar, agregados de polímeros de glicose, componentes da parede celular vegetal, cutina, lignina, suberina, quitina, queratina, ceras e hidrocarbonetos oleosos.

Tabela 5.4. Principais substratos macromoleculares, respectivas estruturas químicas básicas (monômeros) e moléculas absorvidas pelos microrganismos (Burns, 1979)

Substrato macromolecular (origem) ¹	Estrutura molecular básica a ser rompida	Moléculas absorvidas pelas células ²
Celulose (P, M).	Ligação β -(1-4)-D glicano.	Glicose, celobiose.
Hemiceluloses (P).	Ligação β -(1-4)-D xilano. Glucuronos. Galacturonos.	Xilose, xilobiose. Ácido glucorônico. Ácido galacturônico.
Pectina (P,M).	Xiloglicano. Galacturonos. Ligação α -(1-4) e α -(1-6) glicanos.	Xilose. Ácido galacturônico. Glucose, maltose.
Lignina (P).	Polímeros de p-hidroxicinamil álcoois.	Monolignóis (álcoois coniferil, sinapil e p-coumaril), di- e tri-lignóis.
Quitina (A,M).	Ligação β -(1-4)-N-acetilglucosamina.	N-acetilglucosamina quitobiose.
Proteínas e peptídeos (A,M,P).	Polímeros de aminoácidos.	Aminoácidos, pequeno número de peptídeos.
Lipídeos (A,M,P).	Triglicerídeos, fosfolipídeos.	Gliceróis, ácidos graxos.
Peptideoglican (M)	Polímeros de N-acetilglucosamina e ácido N-acetilmurâmico com peptídeos.	N-acetilglucosamina, ácido N-acetilmurâmico, aminoácidos, pequeno número de peptídeos.
Ácido teicóico (M).	Polímeros de poliál fosfatos com sacarídeos e D-alanina.	Glicerol, ribitol, mono e dissacarídeos, alanina.
Exopolissacarídeos microbianos (M).	Manans, dextrans, levans, xantans, pululan, alginato.	Mono e dissacarídeos.

¹ P - planta; A - animal; M - microbiano² Distingue-se para diferentes microrganismos

comentado no início deste capítulo. Durante a decomposição, processos distintos, mas simultâneos, ocorrem, podendo ser assim resumidos:

a) as macromoléculas são atacadas pelas enzimas extracelulares de origem microbiana, produzindo moléculas menores (Tabela 5.4), que serão absorvidas pelas células microbianas;

b) os monômeros e oligômeros, presentes no material em decomposição, ao serem liberados são rapidamente consumidos e transformados em biomassa, CO₂ e energia;

c) como resultado da proliferação microbiana, parte do carbono e os nutrientes do material são transformados em novas moléculas, como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucléicos, quitina e outros;

d) finalmente, restos celulares e metabólitos microbianos, subprodutos da decomposição e com-

plexos organominerais acumulam-se no solo como moléculas quimicamente estáveis conhecidas como húmus.

Como visto, a decomposição é um processo complexo, dificultando sua avaliação. A velocidade do processo pode ser medida através de três maneiras principais:

- a) pela quantidade de carbono evoluída como CO_2 (C- CO_2);
- b) pela estimativa da biomassa formada com base na eficiência de conversão microbiológica dos substratos em decomposição;
- c) empregando-se os modelos cinéticos de decomposição.

Para ilustrar as maneiras de avaliar a decomposição, empregaremos, como exemplo, estudo de Wagner & Wolf (1998) no seguinte experimento: Em um frasco com 100 g de solo adicionaram-se 500 mg da palha de trigo contendo 45% de C. Após incubação com umidade e temperatura adequadas por 14 dias, verificou-se que 94,6 mg de C foram evoluídas como CO_2 do solo que recebeu a palha, enquanto no mesmo solo e condições, porém sem palha, emanaram-se apenas 18,1 mg C- CO_2 . De posse desses resultados experimentais, a porcentagem de decomposição da palha pode ser assim estimada:

- a) tomando-se como base a quantidade de CO_2 emanada do solo, tem-se que:

$$\text{Porcentagem de decomposição} = \frac{(\text{C-CO}_2 \text{ do solo com palha}) - (\text{C-CO}_2 \text{ do solo sem palha})}{\text{Quantidade de C adicionado via palha}} \times 100 =$$

$$= \frac{94,6 \text{ mg C-CO}_2 - 18,1 \text{ mg C-CO}_2}{500 \text{ mg palha} \times 0,45 \text{ C na palha (45\% de C)}} \times 100 =$$

$$= \frac{76,5 \text{ mg C} \times 100}{225 \text{ mg C}} = 34\% \text{ de decomposição em 14 dias de incubação.}$$

- b) baseando-se na estimativa da biomassa e utilizando a eficiência microbiológica de conversão (E), tem-se:

$$E = \frac{\text{mg C-biomassa produzido}}{\text{mg C-biomassa} + \text{mg C-CO}_2 \text{ evoluída}}$$

$$\text{mg C-biomassa} = \frac{E}{1-E} \times (\text{mg C-CO}_2 \text{ evoluído do solo com palha})$$

considerando $E = 40\%$, tem-se que 34% de decomposição é equivalente a 76,5 mg C- CO_2 emitido:

212 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

$$\text{mg C-biomassa} = \frac{0,4}{1-0,4} \times (76,5 \text{ mg C-CO}_2) = 51 \text{ mg de C-biomassa produzido}$$

$$\frac{51 \text{ mg C-biomassa produzido}}{225 \text{ mg C adicionado ao solo}} \times 100 = 22,7\% \text{ de C-palha foi convertido em biomassa microbiana}$$

A quantidade de C não transformada será: $100\% - (\% \text{ C-CO}_2 \text{ evoluído} + \% \text{ de C-biomassa})$ ou $100\% - (34\% + 22,7\%) = 43,3\%$ de C adicionado não sofreu decomposição em 14 dias.

c) a cinética da decomposição baseia-se na taxa de reação (taxa de decomposição) que pode ser expressa como uma função da concentração do substrato que está sendo degradado. Isso se chama ordem da reação, valor do expoente usado para descrevê-la. Quando a taxa de transformação não é afetada por mudanças na concentração do substrato, tem-se ordem zero. Nesse caso, a reação é determinada por outros fatores que não a concentração do substrato. Quando um substrato A é transformado em X, a taxa de reação é:

$$\frac{dA}{dt} = -K \text{ ou integrando tem-se } At = A_0 - Kt$$

A_t é a quantidade de substrato que permanece sem decompor em determinado tempo (substrato remanescente); A_0 , a concentração inicial. K , a constante da reação, e t , o tempo desde o início da reação.

Nas reações de primeira ordem a transformação é proporcional à concentração do substrato no solo. Quando A é convertido a X, a taxa de alteração de A com o tempo será determinada pela expressão:

$$\frac{dA}{dt} = -KA \text{ ou integrando tem-se } At = A_0 e^{-Kt}$$

em que A_t é a quantidade de substrato que não foi transformada no tempo t . Empregam-se programas de computação para determinar A_t e K (por hora, dia ou ano). Para um resíduo em decomposição aplica-se a equação acima para cada um de seus componentes distintos (A, B, C, ...N), de modo que a quantidade não decomposta é expressa pela equação abaixo:

$$At = A_0 e^{-Kt} + B_0 e^{-Kt} + C_0 e^{-Kt} + \dots + N_0 e^{-Kt}$$

Empregando-se o modelo da cinética de primeira ordem ($At = A_0 e^{-Kt} + B_0 e^{-Kt} + C_0 e^{-Kt}$) e considerando a palha com 15% de açúcares e aminoácidos, 65% de celulose e hemicelulose e 20% de lignina e as constantes de primeira ordem (K) de 0,2, 0,08 e 0,01 dia^{-1} respectivamente, tem-se que:

$$At = 15 e^{-0,2(14)} + 65 e^{-0,08(14)} + 20 e^{-0,01(14)}$$

At = $15(0,06) + 65(0,32) + 20(0,87) = 39,5\%$ de C da palha permanecem em sua forma original no solo, isto é, não sofreram decomposição. Com base neste resultado, pode-se também estimar a quantidade de C encontrada na biomassa, da seguinte forma:

$$\begin{aligned} \text{C-biomassa} &= 100\% - (\text{C-CO}_2 \text{ evoluído} + \text{C-não decomposto}) \\ 100\% - (34\% + 39,5\%) &= 26,5\% \text{ do C na biomassa} \end{aligned}$$

Verifica-se que 26,5% de C-palha foi convertido em C-biomassa no período estudado e que este valor é bem próximo daquele estimado com base na eficiência microbológica (22,7%).

A quantidade de C-palha não transformada após a decomposição também pode ser estimada pela relação a seguir:

$$100\% - (34\% \text{ C-CO}_2 \text{ evoluído} + 22,7\% \text{ C-biomassa}) = 43,3\%$$

Tem-se, portanto, que, neste exemplo, ao final de 14 dias de incubação, 34% de C-palha perderam-se como CO₂ (respirado), 22,7% converteram-se em biomassa microbiana e o restante, 43,3%, ficou como material não decomposto, como carbono orgânico no solo. Deve-se entender que o processo de decomposição continua após o período experimental considerado neste exemplo, de modo que parte de C-biomassa será reciclado após a morte dos microrganismos (Figura 5.5). A massa microbiana morta servirá de substrato para outros heterotróficos em sucessão, caracterizando assim a dinâmica do processo. Também se deve entender que parte de C-palha remanescente naquele período, por ser mais resistente, será decomposto por uma população em sucessão mais especializada que existirá enquanto houver frações de C (palha ou biomassa) capazes de sofrer biodegradação. Em síntese, esse processo complexo pode ser assim resumido: à medida que C-resíduo é oxidado, a biomassa é sintetizada, havendo maior aumento no início e tendência de decréscimo com o tempo, quando ocorrerá a reciclagem de C da própria biomassa, que se originou do resíduo (Figura 5.5). Portanto, o destino inicial de C do resíduo no solo é C-biomassa, passando, mais tarde, para formas mais estáveis de C no solo. Entretanto, a maior parte de C, cerca de 2/3, é perdida para a atmosfera como CO₂. Na decomposição de um resíduo de constituição complexa, podem-se distinguir estádios com diferentes características distintas quanto à dinâmica de degradação, como se vê na **figura 5.6a**. Devido à grande perda de C na forma de CO₂, a MOS sofre alterações profundas em sua composição (**Figura 5.6b**). Enquanto os carboidratos representam cerca de 70% dos restos vegetais na MOS, estes caem para cerca de 15% nos estádios posteriores da decomposição e o carbono concentra-se nos compostos aromáticos, ácidos graxos e compostos nitrogenados. Como mostra a figura 5.6a, durante a decomposição, podem-se distinguir três categorias de comportamento em relação à velocidade de decomposição: a) frações que se decompõem rapidamente (< de 1 ano); b) frações com taxa de decomposição intermediária (< 10 anos) e; c) aquelas recalcitrantes que praticamente não se decompõem na escala de tempo da vida humana, exigindo mais de cem anos para se decompor. É importante destacar que a fração considerada ativa é a que garante a atividade dos processos bioquímicos responsáveis pela reciclagem de nutrientes e outros efeitos benéficos para a ecologia do solo.

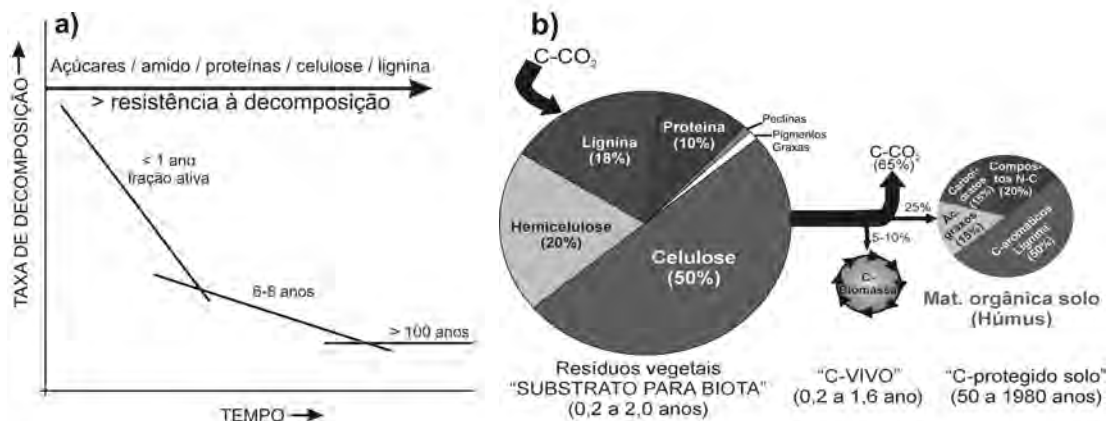


Figura 5.6. Aspectos da decomposição da matéria orgânica do solo (MOS). a) seqüência da cinética geral da decomposição dos principais componentes de restos vegetais no solo; b) alterações na composição dos principais componentes dos resíduos em comparação à da MOS.

5.3. Degradabilidade dos constituintes dos resíduos orgânicos

Um dos aspectos determinantes da degradabilidade de um resíduo é sua composição qualitativa e para entender melhor sua decomposição, é necessário discutir aspectos específicos de cada um de seus componentes principais, considerando que eles variam em função da sua assimilabilidade pelos microrganismos e sua persistência no solo. Essas diferenças ocorrem em função das peculiaridades relacionadas a estruturas químicas das moléculas, à bioquímica (enzimas e rotas degradativas) e da capacidade degradadora da microbiota. Como já visto em relação ao grau de assimilação, os substratos variam de prontamente assimiláveis a assimilação muito lenta (Tabela 5.3). Os primeiros são não persistentes, enquanto os últimos tendem a acumular no solo onde se estabilizam fortemente. Aspectos específicos de alguns desses substratos são apresentados a seguir:

5.3.1. Celulose

É o polissacarídeo de maior ocorrência natural, representando a maior parte do CO₂ fixado pelas plantas. É o principal componente dos vegetais, constituindo, por exemplo, quase 100% do algodão. A celulose é formada por cadeias de unidades de glicose, unindo-se ao C-4 da unidade seguinte por uma ligação de glicosídeo ou ligação β-1,4 (Figura 5.7). É insolúvel em água (devido, em parte, a seu alto peso molecular) e não tem sabor. A decomposição da celulose no solo ocorre por ação de enzimas (celulases) produzidas por uma vasta e diversa população fúngica, principalmente representantes dos gêneros *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Phoma* e bactérias aeróbias e anaeróbias, como os exemplos a seguir:

a) Anaeróbias e aeróbias facultativas: *Acetovibrio*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Caldocellum*, *Clostridium*, *Erwinia*, *Eubacterium*, *Micromonospora*, *Pseudonocardia*, *Ruminococcus* e *Thermoanaerobacter*.

b) Aeróbios e anaeróbios facultativos: *Acidothermus*, *Actinoplanes*, *Actinopolyspora*, *Archangium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Celvibrio*, *Corynebacterium*, *Cytophaga*, *Frankia*, *Herpetosiphon*, *Micromonospora*, *Polyangium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces*, *Thermonospora* e *Xanthomonas*.

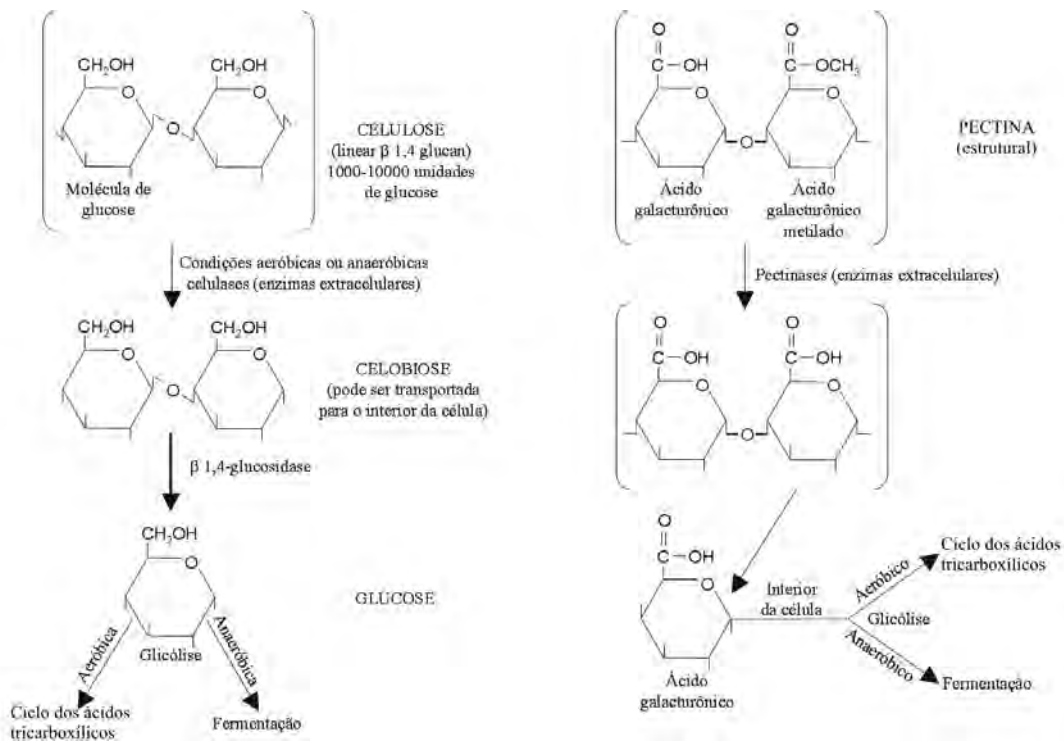


Figura 5.7. Esboço da decomposição da celulose e da pectina no solo. (Stevenson, 1986.)

Os microrganismos celulolíticos, ao atacar a celulose, rompem sua molécula de alto peso molecular, desdobrando-a em celobiose (um dissacarídeo, com glicose ligada à glicose) e glicose livre, pela ação da celulase (β -1,4 glicosidase) (ver Figura 5.7). Microrganismos aeróbios oxidam a glicose via ciclo dos ácidos tricarbóxicos, enquanto os anaeróbios fermentadores produzem, a partir da glicose, acetato, propionato, butirato, H_2 e CO_2 , como principais produtos. É interessante observar que *Cytophaga* não produz as celulases extracelulares, mas promove a digestão da celulose por contato da membrana celular com as fibrilas de celulose. Nos solos úmidos, os fungos são os celulolíticos predominantes, ao passo que nos solos de regiões mais secas, as bactérias são os principais decompositores. Outros fatores físicos e químicos, além da água, como pH, temperatura e oxigênio, afetam a decomposição da celulose. De modo generalizado, em $pH \leq 5,5$, há predominância de fungos, enquanto

216 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

bactérias do gênero *Cytophaga* predominam em pH de 5,7 a 6,2; em pH neutro a alcalino, proliferam bactérias do gênero *Vibrio*. Em temperaturas elevadas como ocorrem na compostagem, a bactéria celulolítica, termofílica e anaeróbia *Clostridium thermocellum* torna-se o mais importante celulolítico, contribuindo para a compostagem de material rico em celulose. Outras espécies de *Clostridium* são importantes decompositores anaeróbios de celulose.

5.3.2. Hemicelulose e Pectinas

A hemicelulose é o segundo maior componente dos vegetais e não apresenta semelhança estrutural com a celulose. É um polissacarídeo constituído por arranjos de pentoses (como xilose e arabinose), hexoses (como manose, glicose e galactose) e, algumas vezes, por ácidos urônicos (como glucurônico e galacturônico). Exemplos de hemicelulose são xilanas, mananas e galactanas. A pectina, um componente importante da lamela média da parede celular das plantas, confere uma consistência gelatinosa à matriz celulósica, sendo, geralmente, associada à hemicelulose nos tecidos vegetais.

A decomposição da hemicelulose pode ser dificultada quando ela se liga a outras substâncias, como fibrilas de hemicelulose, quando formam pontes de hidrogênio com fibras na matriz da parede celular vegetal. Muitas enzimas são envolvidas na sua degradação, sendo geralmente produzidas por fungos, que parecem iniciar o ataque, seguidos por bactérias. Os actinomicetos exercem ação mais lenta e prolongada na decomposição. Bactérias do gênero *Bacillus* são especialistas na degradação de xilanas.

A decomposição das pectinas ocorre por pectinases, representadas por três enzimas: protopectinase, pectina metilesterase e poligalacturonase (Figura 5.7). Estas atuam na degradação de substâncias pécnicas como protopectina, pectina e ácido péctico, sendo produzidas por bactérias dos gêneros *Erwinia*, *Clostridium*, *Pseudomonas* e *Bacillus*. Essa decomposição ocorre no solo, mas, muitas vezes, na própria planta antes mesmo de ser depositada ou incorporada ao solo. Alguns fungos patogênicos, responsáveis pela murcha e decomposição de vegetais armazenados e simbiotróficos vegetais também produzem pectinases para facilitar a penetração nos tecidos das plantas.

5.3.3. Lignina

A lignina é outro polímero natural muito importante, responsável por 25% da fitomassa seca produzida anualmente na biosfera (35% da madeira). Sua importância se deve também ao fato de que este é o biopolímero mais abundante na biosfera, sendo recalcitrante em função do seu alto peso molecular e estrutura química tridimensional que lhe confere alta estabilidade. A estrutura da lignina é muito complexa, formada por subunidades aromáticas derivadas do fenilpropano, que se repetem em ligações diferentes, sendo interligadas por ligações C-C ou tipo éter, que contribuem para sua elevada recalcitrância. A decomposição da lignina é feita por lacases e peroxidases, sendo as primeiras glicoproteínas e, as segundas, hemoproteínas. As lacases foram originalmente isoladas de *Rhus vernicifera* em 1883 e,

mais tarde, em fungos do gênero *Trametes*. Atualmente, mais de 15 isoenzimas de lacases e peroxidases já foram isoladas de 40 gêneros de *Agaricales*. Estas têm sido clonadas e seqüenciadas, sendo reguladas por nutrientes, sobretudo C e N. A lignina, em materiais lignocelulósicos, protege a celulose e a hemicelulose das enzimas que digerem esses polissacarídeos; por isso, o teor desse componente relaciona-se inversamente com a taxa de decomposição dos materiais vegetais.

A degradação da lignina no solo dá-se, principalmente, por grupos especializados de Basidiomicetos pertencentes à ordem Agaricales e por alguns Ascomicetos. Entre os mais eficientes e mais estudados, têm-se: *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete versicolor* e *Phanerochaete chrysosporium*, sendo o último exemplo típico de decompositor da lignina. Esses fungos degradam tanto a lignina quanto a celulose. Os fungos que causam a podridão-parda, que se diferenciam dos que causam a podridão-branca, por serem incapazes de metabolizar anéis aromáticos ou seus produtos alifáticos, são, por isso, mais eficientes na decomposição da celulose e hemicelulose. Ao atacar polissacarídeos associados à lignina, removem o grupo CH₃ e as cadeias laterais R-O-CH₃ da lignina, deixando os fenóis que, ao se oxidar, tornam-se marrons (ou pardos). Esses radicais fenólicos se condensam podendo formar substâncias húmicas. Entre os fungos da podridão-parda, destacam-se: *Poria coeue*, *Gloeophyllum trabeum* e *Lenzites trabea*. Os fungos da podridão-branca são tanto Ascomicetos quanto fungos imperfeitos, citando-se como gêneros principais: *Graphium*, *Monodictys*, *Allescheria*, *Paecilomyces*, *Papulospora* e *Thielevia*. Há evidências de que bactérias, como *Bacillus*, *Streptomyces* e *Nocardia*, degradam complexos lignocelulósicos, atribuindo-se também tal ação a outras linhagens de *Flavobacterium*, *Pseudomonas* e *Aeromonas*. Algumas bactérias aeróbias, como *Azotobacter* e *Pseudomonas*, reduzem o peso molecular da lignina, mas sem, necessariamente, degradá-la. Os fatores edáficos como aeração, pH, umidade, temperatura e também relação C/N do resíduo são importantes na decomposição da lignina e interferem na atividade e competição de Basidiomicetos decompositores. Umidade entre 60 e 100%, temperatura de 25 a 30°C, a relação C:N (de aproximadamente 25:1) e pH na faixa ácida favorecem a decomposição da lignina.

A lignina, por ser uma macromolécula, só pode entrar na célula microbiana após a ação enzimática que produz compostos aromáticos simples capazes de serem absorvidos (**Figura 5.8**). Esses entram em várias rotas catabólicas até formar ácidos alifáticos que são mineralizados. Por apresentar baixa degradação, apenas pequena parte do carbono da lignina é incorporado à microbiomassa do solo e poucos compostos são originados da degradação da lignina, como, por exemplo, o álcool coniferílico, assim chamado porque também existe na seiva de coníferas (ex. *Pinus*). No entanto, a complexidade da atividade ligninolítica e os seus inúmeros processos bioquímicos, indicam possibilidades de obtenção de compostos diversos a partir da biodegradação da lignina. De fato, alguns componentes, como ácidos ferrúlico, vanílico e caféico, todos com estruturas similares às subunidades da lignina, são detectados no solo em quantidades variadas (Siqueira et al., 1991b). A degradação da lignina extrapola os interesses da Ciência do Solo, sendo empregadas fusão de protoplastos e outras técnicas de engenharia genética para obter genótipos microbianos eficientes na sua biodegradação, visando à melhoria na alimentação animal e reciclagem de resíduos ricos nesse polímero. No solo, a lignina ou seus derivados são importantes componentes precursores das substâncias húmicas.

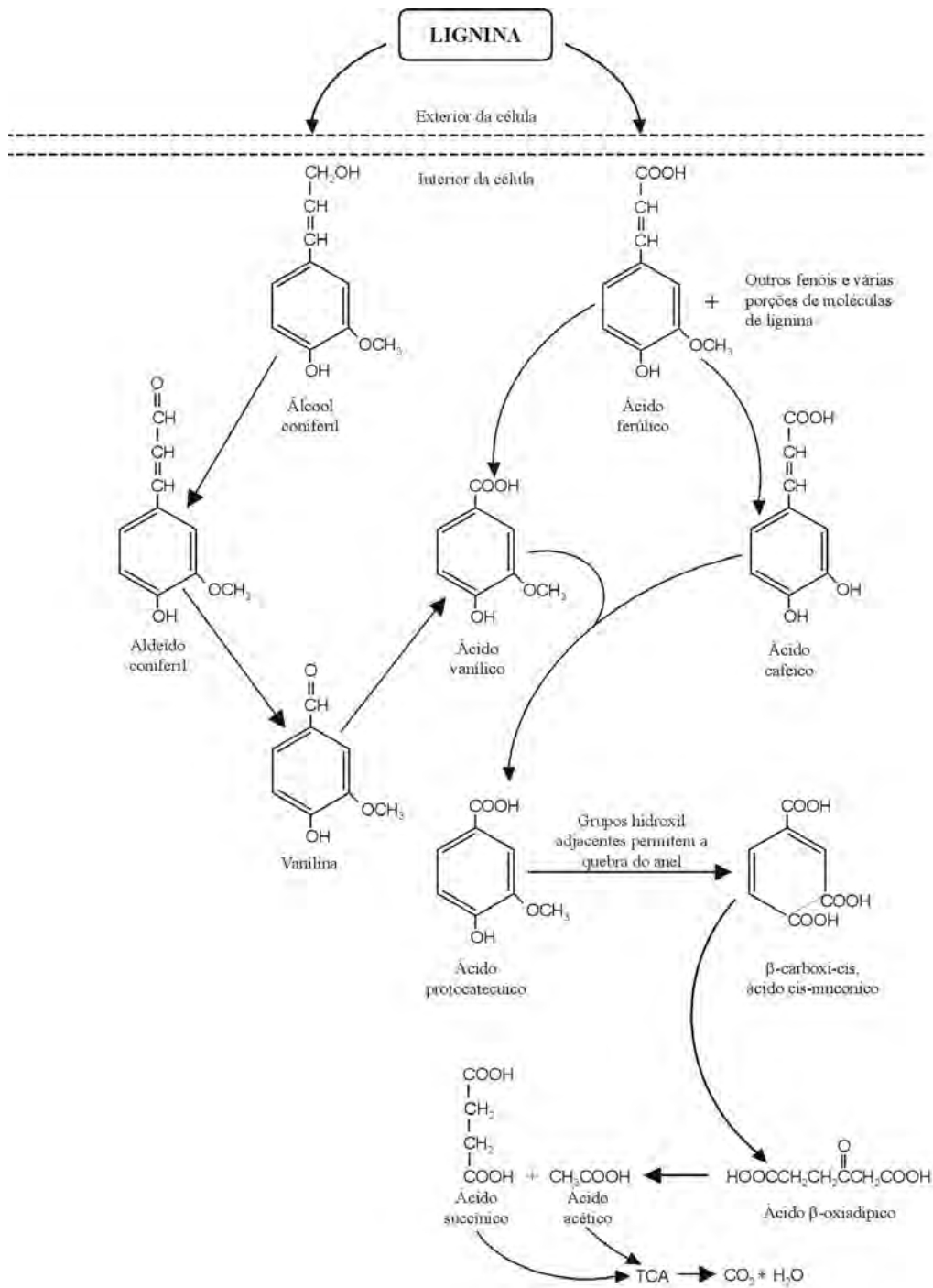


Figura 5.8. Rota da degradação microbiana da lignina no solo. (Paul & Clark, 1996.)

5.3.4. Outros componentes dos materiais orgânicos

Outros compostos constituintes da fitomassa e da massa animal, como amido, lipídios, glicogênio, quitinas e proteínas específicas, são decompostos no solo pela ação microbiana. O amido é uma mistura de dois polímeros de glicose: amilose e amilopectina, sendo o mais importante composto orgânico de reserva das plantas, mas sua decomposição no solo tem sido pouco estudada. Poucos microrganismos parecem ser aptos a degradar o amido. Entre os bons degradadores estão os actinomicetos que produzem ácidos orgânicos, CO₂ e dextrinas durante a decomposição.

Os lipídios produzidos pelas plantas e animais são ésteres complexos de ácidos graxos e álcoois, pouco conhecendo-se da sua degradação, mas sabe-se que bactérias, principalmente, atacam as gorduras e ceras naturais. A cutina, lipídio que se assemelha à celulose por sua longa cadeia, pode ser atacada por leveduras e bactérias (ex.: *Azotobacter* e *Streptomyces*) e fungos (ex.: *Penicillium spinulosum*, *Rhodotorulla* sp.). A quitina é um importante componente do exoesqueleto de artrópodes, da parede celular de fungos, de algumas algas e de ovos de nematóides. Assemelha-se à celulose por sua longa cadeia, diferindo por constituir-se de glicosamina, um açúcar aminado de ocorrência abundante no solo. Sua decomposição por fungos e bactérias resulta em glicose e amônia, as quais são utilizadas pela microbiota. Alguns microrganismos possuem quitinase e gliconase, importantes no ataque dos complexos de quitina resistentes à decomposição, como as asas de insetos. Os taninos são aromáticos condensados degradados por poucos microrganismos, como espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e outros Deuteromicetos.

As proteínas são os componentes dos seres vivos com maior teor de N. Embora possam ser facilmente decompostas por inúmeros microrganismos que produzem exoenzimas proteolíticas nos resíduos vegetais e no solo, estão freqüentemente associadas aos taninos, à lignina ou às argilas. Suas combinações aumentam-lhe a resistência à decomposição, e conseqüentemente, sua persistência no solo. A queratina, por exemplo, principal componente de peles, penas, pêlos e unhas de animais, é um exemplo de proteína fibrosa resistente à degradação, graças à existência de ligações de dissulfeto entre moléculas de cisteína. São bastante conhecidos os fungos queratinofílicos, capazes de degradar a queratina, alguns deles causadores de doenças capilares, de peles e de unhas e que sobrevivem bem no solo. A dissipação de proteínas e ácidos nucléicos no solo tem-se tornado assunto de grande interesse após o advento da aplicação da Engenharia Genética na obtenção de plantas transgênicas que expressam proteínas que não ocorrem naturalmente nas cultivares não transgênicas. Um exemplo são cultivares produzindo proteínas de *Bacillus thuringiensis*, tóxicas para lepdópteros pragas. Estas, ao serem plantadas no campo, aumentariam a deposição de proteínas no solo (ver item 5.5.3).

Outros materiais orgânicos como componentes do húmus apresentam taxa de degradação muito baixa, sendo considerados recalcitrantes. Esses podem ser degradados por vários microrganismos, como os fungos *Penicillium frequentans*, *Penicillium lutem*, *Polystictus versicolor*, *Pisolithus tinctorius* e *Poria subacida* e as bactérias *Pseudomonas sinosa*, *Bacillus megaterium*, os quais usam esses materiais como fonte de nutrientes. Existem algumas evidências de que não somente as plantas, mas também alguns fungos, como o ectomicorrízico *P. tinctorius*, são capazes de utilizar algumas substâncias húmicas. Há também no solo substâncias de origem microbiana de difícil decomposição, como melaninas e componentes de paredes celulares e estruturas microbianas.

5.4. Fatores que influenciam a decomposição

Como já visto, a decomposição de um resíduo orgânico é um processo complexo determinado pela sua qualidade e pela atividade da biota, regulada por fatores ambientais (ver capítulo 3). Em geral, a decomposição é favorecida por:

- a) resíduos com baixo teor de lignina ou compostos fenólicos e alto teor de materiais solúveis, nitrogênio e partículas de tamanho reduzido com baixa relação C:N, além do próprio teor de N;
- b) condições físicas e químicas do solo que maximizem a atividade biológica, especialmente temperatura entre 30 e 35°C e umidade próxima à capacidade de campo e aeração adequada;
- c) pela ausência de fatores tóxicos no resíduo ou no solo, os quais podem inibir a atividade dos heterotróficos decompositores.

As características do substrato como a estrutura química (unidades básicas, tipos de ligações químicas, tamanho, forma e grau de polimerização) e funções no tecido vegetal (carboidratos estruturais no caso da celulose na parede celular, e de reserva, no caso do amido de órgãos especializados como sementes, raízes e tubérculos) influenciam a decomposição, fazendo com que diferentes substâncias sejam decompostas diferenciadamente no solo. Em função da maior ou da menor concentração de certos componentes, o resíduo degrada mais lentamente ou mais rapidamente, como ilustrado na figura 5.6. Enquanto os resíduos ricos em açúcares, proteínas, amidos e celulose são decompostos em menos de um ano, aqueles ricos em outras frações como a lignina resistem à decomposição, persistindo por tempo maior no solo. Alguns exemplos da biodegradabilidade de substâncias e materiais orgânicos encontram-se na **tabela 5.5**. Os substratos primários (glicose, glicina e celulose) são decompostos rapidamente, enquanto lignina, melanina e ácido húmico, que são macromoléculas complexas, e casca de madeira, turfa e acículas de pinos, são consideradas recalcitrantes e tendem a se acumular no solo, imobilizando grande quantidade de C e nutrientes. Com exceção da melanina e de outras macromoléculas de origem microbiana, os tecidos ou restos de organismos (biomassa morta) apresentam decomposição rápida e por isto têm elevada taxa de reciclagem. Estima-se que para o completo desaparecimento de materiais, como a lignina da cana do milho, seriam necessários pelo menos 50 anos, existindo resultados que indicam serem necessários mais de 90 anos para o completo desaparecimento desses componentes no solo.

Outro componente que exerce grande influência na decomposição é o ambiente. Um bom exemplo dessa influência é o acúmulo de MOS em solos com drenagem insuficiente, como ocorre em áreas alagadas. Como vimos, em condições de anoxia, a atividade microbiana é alterada de modo que a decomposição orgânica torna-se muito lenta. Ao contrário, qualquer interferência que melhore a aeração do solo, como revolvimento causado por aração e gradagem (cultivo), resulta em aceleração da decomposição. A ausência de revolvimento do solo no sistema de plantio direto conserva a MOS, por reduzir sua decomposição por esse e outros motivos. Fatores climáticos, como regime térmico e pluviométrico, exercem enorme influência na quantidade e tipo de resíduo (qualidade) depositado e certamente na taxa de decomposição desses no solo, sendo a temperatura um dos fatores cruciais na decomposição. A resposta à elevação da temperatura é medida pelo coeficiente Q_{10} , sendo geralmente da ordem de 2,0 para faixas de 5 a 35°C.

Tabela 5.5. Biodegradabilidade de materiais orgânicos no solo (Burns & Martin, 1986).

Substrato	Semanas de decomposição					
	1	4	8	12	20	28
	-----Porcentagem do aplicado evoluído como CO ₂ (%)-----					
Glicose	73	82	88	89	90	90
Glicina	74	83	88	89	-	-
Celulose	27	52	71	77	79	84
Lignina	5	12	18	22	27	30
Ácido vanílico	47	64	68	71	73	74
Acícula pinos	12	23	26	28	20	32
Palha trigo	26	45	55	59	63	67
Células <i>Penicillium</i>	56	72	75	76	78	79
Células <i>Arthrobacter</i>	60	79	83	85	86	87
Polissacarídeo bacteriano	28	50	59	65	72	73
Melanina	0	1	4	8	10	-
Casca madeira	1	2	4	8	32	36
Turfa	1	2	2	2	3	3
Ácido húmico	1	1	1	1	1	2

Ou seja, a velocidade de decomposição dobra quando a temperatura é elevada em 10°C, nessa faixa considerada. Maiores informações desses aspectos são apresentadas no capítulo 7.

Ecossistemas, assim como culturas em diferentes agrossistemas, produzem quantidades diferentes de resíduos com composição também diferentes. O milho, por exemplo, produz mais do dobro de resíduos que a soja ou o trigo (**Tabela 5.6**). Nas três culturas, as raízes são as principais fontes de material orgânico para o solo, representando quase a metade do total de resíduos deixados no solo. Os resíduos de soja possuem elevados teores de componentes solúveis e nitrogênio (pois ela fixa N₂ atmosférico em simbiose com rizóbio) e baixos teores de celulose e cinzas. Isso se reflete na sua decomposição mais rápida em relação à das gramíneas. Aos 32 dias de decomposição, 68% dos resíduos da soja já haviam sido decompostos contra pouco mais de 40% para as gramíneas. Após 679 dias, no entanto, essas diferenças são bem menores, indicando que os resíduos de gramíneas também são decompostos. Os autores da pesquisa avaliaram também aspectos microbiológicos da decomposição dos resíduos e observaram que os fungos tendem a colonizar mais os resíduos de milho, enquanto, nos de soja, predominam as bactérias. As razões para isso não são conhecidas, mas como a soja absorve mais cátions básicos como o Ca, esses resíduos podem ser mais adequados ao crescimento das bactérias. Também, a maior demanda de N pelas bactérias pode explicar pelo menos parte desse fenômeno. Durante o verão do primeiro ano, observa-se que os gêneros de fungos de maior incidência são distintos entre os três resíduos (**Tabela 5.7**). Dois anos depois da aplicação dos resíduos, os gêneros dominantes eram outros e ainda diferentes para os distintos resíduos. Portanto, ocorrem mudanças nos gêneros de maior incidência com o tempo de decomposição, confirmando que há sucessão durante a decomposição dos resíduos.

222 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

Apenas o gênero *Aspergillus*, de ocorrência generalizada e, muitas vezes, dominante no solo, foi encontrado com incidência elevada nos três resíduos. Verifica-se que o tipo deste influencia a composição dos decompositores e certamente a ecologia microbiana do solo. Portanto, é razoável considerar que parte dos efeitos indesejáveis da monocultura prolongada resulte de alterações biológicas como essas, devendo, portanto, ser preconizado a rotação de culturas.

Tabela 5.6. Produção total, contribuição relativa das raízes, composição química e decomposição de resíduos de milho, trigo e soja em agrossistemas dos EUA (Broder & Wagner, 1988).

Variáveis	Milho	Trigo	Soja
Quantidade Mg ha ⁻¹	27	11	10
Contribuição das raízes, %	48	47	47
Componentes solúveis, g kg ⁻¹	293	288	557
Hemicelulose, g kg ⁻¹	268	184	90
Celulose, g kg ⁻¹	284	361	222
Lignina, g kg ⁻¹	56	141	119
Nitrogênio, g kg ⁻¹	10	9	22
Cinzas após ignição, g kg ⁻¹	93	84	64
Decomposição (%) 32 dias	42	47	68
679 dias	85	82	94

Tabela 5.7. Gêneros de fungos predominantes no período de verão e sua proporção em relação ao total de isolados de resíduos de soja, milho e trigo em decomposição (Broder & Wagner, 1988).

Resíduo	Após 1 ano	Ocorrência*	Após 2 anos	Ocorrência
Soja	<i>Amerosporiopsis</i>	30-40%	<i>Penicillium</i>	20-30%
	<i>Rhizopus</i>	10-20%	<i>Sesquicillium</i>	10-20%
			<i>Aspergillus</i>	< 10%
Milho	<i>Myrothecium</i>	40-50%	<i>Aspergillus</i>	20-30%
	<i>Aspergillus</i>	10-20%	<i>Emericella</i>	10-20%
	<i>Gibberella</i>	< 10%		
Trigo	<i>Aspergillus</i>	30-40%	<i>Trichoderma</i>	20-30%
	<i>Rhizopus</i>	10-20%	<i>Aspergillus</i>	< 10%
	<i>Pithomyces</i>	10-20%	<i>Penicillium</i>	< 10%

* Frequência.

A influência dos diversos fatores que controlam a decomposição e o acúmulo da MOS deve ser avaliada sob diferentes aspectos e níveis de resolução. Estes vão de ecossistema até escala molecular para os vários aspectos do ambiente, tipo e qualidade do resíduo produzido, organismos envolvidos e frações da MOS. Para o nível de ecossistema, os aspectos mais importantes são: macroclima e tipo de solo (ambiente), produção de folhas, de raízes e de serrapilheira (resíduo), biota total do solo (organismos decompositores) e material orgânico total (fração orgânica). No outro extremo do nível de resolução, existe a escala molecular. Nesse caso, destacam-se a disponibilidade de oxigênio, água e minerais do solo (ambiente), presença de substratos e se estes estão livres para decomposição ou se estão adsorvidas às partículas do solo. Além desses fatores, a existência de enzimas específicas para os substratos disponíveis é outro aspecto de nível molecular que afeta a decomposição.

A decomposição da MOS nos trópicos é muito rápida e o cultivo (revolvimento) do solo geralmente causa grandes perdas no estoque de carbono, especialmente após o desmatamento. Em solos da Amazônia, estudos indicam um decréscimo após o desmatamento e 2 anos de pastagem, mas, depois de 8 anos com braquiária, houve reversão dessa tendência e o estoque de carbono na camada arável do solo encontrava-se em nível acima da floresta original (Cerri, 1994). No Paraná, Cardoso et al. (1992) verificaram decréscimos médios de 40% nos Latossolos e de 67% nos Podzólicos após 10 anos de cultivo. Isso foi responsável por grande impacto ambiental nas regiões agrícolas daquele Estado, situação revertida após a adoção de técnicas de cultivo mais conservacionistas, como a rotação de culturas e o sistema plantio direto. Em outro estudo em áreas de cerrado, verificou-se que, enquanto o cultivo por 13 anos reduziu o estoque de carbono a um metro de profundidade, a implantação de uma floresta de eucalipto (12 anos), pastagem plantada e sistema plantio direto aumentaram o estoque de carbono em relação ao cerrado original (**Tabela 5.8**). Os aumentos ocorreram devido à maior taxa de adição de carbono ao solo, resultantes do aumento da produtividade primária do ecossistema. Outros exemplos são apresentados neste capítulo e ilustram o fato de que em algumas situações é possível manter ou até mesmo elevar o estoque de carbono no solo, desde que práticas de manejo adequadas sejam adotadas.

Tabela 5.8. Conteúdo e estoque de C à profundidade de 1 m e alterações em solo de cerrado sob diferentes usos (Corazza et al., 1999).

Sistema de uso	Conteúdo	Em relação ao cerrado original		
		Alteração do estoque atual	Tempo	Taxa de adição ou perda
	Mg ha ⁻¹		anos	Mg ha ⁻¹ ano ⁻¹
Cerrado	133 c	na*		
Eucalipto 12 anos	148 a	+15	12	+1,22
Pastagem cultivada	150 a	+17	18	+0,92
Cultivo convencional	127 c	-5	13	-0,50
Plantio direto	155 a	+22	15	+1,43

* Não se aplica. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Esse é um aspecto interessante que estabelece um elo muito forte entre a Microbiologia do Solo através dos processos de decomposição, uso agrícola da terra e mudanças ambientes globais. Graças ao fato de que a maior parte do carbono depositado em um solo aerado é perdido na forma de CO_2 , como consequência da biooxidação, recompor a matéria orgânica é um processo lento. Por exemplo, estima-se que para elevar a MOS de um solo de 3 para 4%, em um sistema que recebe 2 Mg ha^{-1} de resíduo por ano, sejam necessários em torno de 100 anos. Isso, no entanto, depende muito das condições de equilíbrio do solo e do manejo do ecossistema.

5.5. Dinâmica e manutenção da MOS

O balanço entre a taxa de deposição e de decomposição determina o acúmulo ou a perda da MOS, neste capítulo referido como o material orgânico incorporado à matriz do solo. O processo contínuo de deposição, decomposição e renovação denomina-se reciclagem da MOS, cuja taxa pode ser obtida pela razão entre o estoque em equilíbrio constante de carbono no solo e a taxa de deposição anual. Tomando-se como exemplo um estoque de 26 Mg ha^{-1} e uma taxa de deposição de $1,2 \text{ Mg ha}^{-1}$, tem-se um tempo de reciclagem da MOS de 22 anos ($26/1,2$). O tempo de reciclagem pode ser ainda definido como o tempo necessário para que haja 90% de decomposição da MOS, sendo esse procedimento também empregado para avaliar sua dinâmica. No entanto, como exemplificado na figura 5.6a, a decomposição de resíduos compostos de vários substratos é multifásica, e para contornar isso, especialistas desenvolveram modelos de descrição matemática para descrever e integrar conhecimento das transformações à dinâmica da MOS no solo. Modelos são algoritmos que reproduzem, através de funções matemáticas, as respostas de um sistema a determinada combinação de fatores que a influenciam. É uma simplificação da realidade através de simulações que tentam prever comportamentos e estabelecer dinâmica ou aplicação de dados empíricos para obter valores de interesse específico, no caso de modelos matemáticos. Inúmeros modelos têm sido desenvolvidos para processos bioquímicos no solo, incluindo a decomposição da MOS, que geralmente se enquadra na cinética de primeira ordem, como já foi abordado no item 5.1. Esse modelo considera que a decomposição é proporcional à concentração inicial do substrato. Assim, pode-se inferir que a capacidade degradadora do solo é ilimitada, como de fato é o que se espera quando se considera o potencial de crescimento microbiano no solo e certos limites ambientais que regulam esta atividade.

A cinética dos processos de decomposição é descrita por equações matemáticas como: $At = A_0 e^{-Kt}$ para reações que seguem uma cinética de primeira ordem, onde At é a quantidade de substrato remanescente no tempo t . Programas de computadores são disponíveis para ajustes das curvas de respostas e determinação de At e K , e a representação gráfica do modelo é construída em escala linear ou logarítmica. Pelo modelo, pode-se calcular o $t_{1/2}$, que é o tempo requerido para transformar a metade da concentração inicial do substrato, que também é um parâmetro da dinâmica da MOS. Fazendo-se $At = A_0/2$ tem-se que $t_{1/2} = 0,693/K$. O tempo médio de residência (TMR) é definido como o tempo gasto para a reciclagem total do resíduo. Em termos de cinética, TMR corresponde ao tempo de reciclagem de uma quantidade de substrato igual à quantidade inicial. Para reações de primeira ordem este é igual a A_0/K

que é igual a $1/K$. Assim a TMR é o recíproco da constante de decomposição e os valores de K variam conforme a substância ou frações da MOS, sendo alguns exemplos apresentados a seguir: glicose, $K = 0,1$ a $0,3 \text{ dia}^{-1}$; celulose, $K = 0,05$ a $0,1 \text{ dia}^{-1}$; lignina, $K = 0,002$ a $0,003 \text{ dia}^{-1}$; MOS protegida quimicamente, $K = 0,0002$ a $0,0004 \text{ dia}^{-1}$.

A variação no conteúdo de matéria orgânica, também expressa como carbono orgânico no solo (COS), pode ser quantificada por modelos matemáticos unicompartmentais como o apresentado a seguir:

$$\frac{dC}{dt} = AK_1 - K_2C$$

em que dC/dt é a variação temporal do COS (Mg ha^{-1}); K_2 é a taxa de perda de COS (ano^{-1}); A representa o C fotossintetizado adicionado anualmente, ou seja, a taxa de adição de COS ($\text{Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$); K_1 é a fração de A que permanece após um ano; o binômio AK_1 , representa a quantidade adicionada e, K_2C , a quantidade perdida. Em solo sob vegetação natural em equilíbrio, não ocorre variação nos conteúdos de COS ($dC/dt = 0$); portanto, não há perda nem ganho líquido de COS. Em solo sob cultivo, há alterações nas taxas de adição e de perdas, resultando em $dC/dt \neq$ zero, podendo tornar-se zero, após longo período de manejo constante, quando atinge o equilíbrio. Enquanto o cultivo intensivo do solo aumenta K_2 , a adoção de práticas conservacionistas, como a rotação de culturas, eleva o valor de A . Estudo de Bayer descrito em Santos & Camargo (1999), aplicou o modelo acima em um Podzólico Vermelho-Escuro no Rio Grande do Sul, submetido ao sistema plantio direto e convencional e vários sistemas de rotação/consorciação de culturas. Para uma taxa de adição de $4,35 \text{ Mg ha}^{-1}$ ($AK_1 = 0,87 \text{ Mg ha}^{-1}$), a taxa de perda foi de $0,054$ e $0,029 \text{ ano}^{-1}$ (5,4% e 2,9% de decomposição) para o plantio convencional e direto, respectivamente, representando uma diminuição de 85% no valor K_2 devido à ausência do cultivo (revolvimento) do solo. O tempo necessário para alteração no conteúdo de carbono orgânico do solo (COS) de modo que igualasse a $C_0 - C_e/2$ ($t_{1/2}$) foi de 13 anos para o sistema convencional e de 24 anos para o plantio direto. O C_e (conteúdo estável de COS) foi estimado no sistema aveia + milho em 16 kg ha^{-1} no plantio convencional e 30 kg ha^{-1} no plantio direto. Para aveia+milho e milho + caupi em 29 kg ha^{-1} no plantio convencional e 55 kg ha^{-1} no plantio direto. Segundo o estudo, o plantio direto rotacionado com aveia + vicia/milho + caupi ($K_2 = 0,029 \text{ ano}^{-1}$ e $AK_1 = 1,59 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) promoveria um incremento de COS de $16,83 \text{ Mg ha}^{-1}$ na camada de 0 a $17,5 \text{ cm}$, ocorrendo a metade desse incremento em 24 anos. Já o solo sob preparo convencional e com aveia+milho ($AK_1 = 0,87 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), resultaria numa redução no COS de $10,49 \text{ Mg ha}^{-1}$, ocorrendo a metade dessa perda em 13 anos. Segundo o autor da pesquisa, quando a estabilidade do sistema for atingida, haverá uma diferença de $38,8 \text{ Mg ha}^{-1}$ de COS entre o plantio direto (aveia + ervilhaca/milho + caupi) em relação ao plantio convencional (aveia + milho), evidenciando, portanto, os benefícios do uso de leguminosas para retenção de C no solo.

Em estudos recentes desenvolvidos também no Rio Grande do Sul em um Argissolo Vermelho degradado por 16 anos de cultivo inadequado, Lovato et al. (2004) constataram que a introdução de leguminosas contribuiu para maior adição de C e N ao solo, refletindo no acúmulo de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) no solo, assim como a adição de N-mineral ao sistema teve também benefícios para o COT. A relação entre a quantidade adicionada (A), a taxa de variação anual (dC/dt) do estoque de COT

em relação ao estoque inicial é apresentada na **figura 5.9**, onde é evidente o efeito do plantio direto e da aplicação de N no estoque de COT no solo. Os coeficientes angulares das equações representam a fração ou porcentagem do C adicionado que permanece no solo. Na figura, são indicados também que para manter o estoque de COT, que no início do experimento era de $32,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ (dC/dt), seria necessário uma adição anual de C de 4,2; 7,3 e 8,9 $\text{Mg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ para plantio direto (PD), preparo reduzido (PR) e plantio convencional (PC) respectivamente. As taxas de perdas (K_2) podem ser calculadas multiplicando-se as adições x fração retida no solo ÷ estoque inicial (ex.: $4,2 \times 0,129 \div 32,55 = 0,0166$), obtendo-se os seguintes valores: 0,0166; 0,0181 e 0,0314 ano^{-1} para PD, PR e PC respectivamente. As perdas no PC são quase duas vezes maiores que no PD, cujo sistema possui maiores taxas de humificação e as menores de perdas de matéria orgânica do solo. Isso explica o maior acúmulo de COT e significa menor emissão de C-CO₂ e maior seqüestro de C-CO₂ no solo sob esse sistema, em relação ao solo sob cultivo convencional. Esse comportamento do solo é também muito influenciado pela seqüência de culturas e aplicação de N-mineral, como ilustrado na figura. Amado et al. (2001) demonstraram que, enquanto num sistema tradicional de pousio/milho, houve uma liberação líquida de 4,32 Mg ha^{-1} de CO₂ em relação ao campo natural, num sistema de milho + mucuna ocorreu um seqüestro de 15,5 Mg ha^{-1} de CO₂. Portanto, através da modelagem, pode-se estabelecer a relação entre as práticas e seu impacto na dinâmica da MOS, sendo muito promissora como ferramenta para a definição de práticas agrícolas mais conservacionistas. Com base neste tipo de modelagem, é possível definir sistemas de manejo que maximizem as entradas (K_1A) e minimizem as perdas (K_2C) anuais de C no solo.

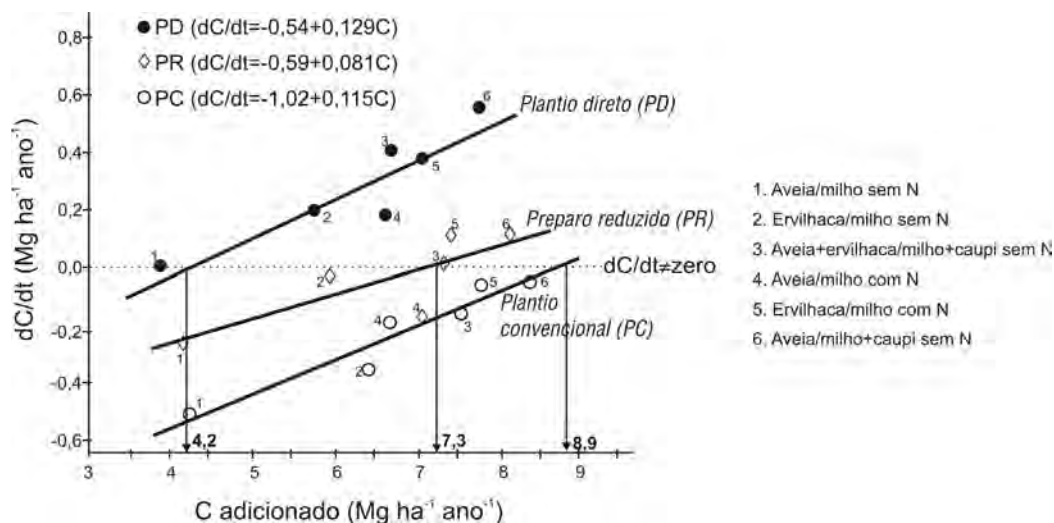


Figura 5.9. Relação entre a quantidade de C adicionada e a variação do seu estoque (dC/dt) na camada superficial de solo submetido a diferentes sistemas de preparo. (Lovato et al., 2004.)

A MOS tem natureza química e origem muito complexa, sendo constituída por material adicionado, seus produtos de transformação, células microbianas e esqueletos de invertebrados, metabólitos microbianos, produtos da sua interação ou com componentes inorgânicos do solo (minerais e argilas) e materiais recalcitrantes, aqueles resistentes à decomposição pelos microrganismos (**Figura 5.10**). A MOS sofre inúmeras e constantes transformações, algumas já discutidas e que resultam em C-CO₂ (perdido), C-biomassa e C-húmus (**Figura 5.11**). Essas frações principais são imprescindíveis para entender os vários aspectos da transformação, dinâmica e perda de COS adicionado ao solo.

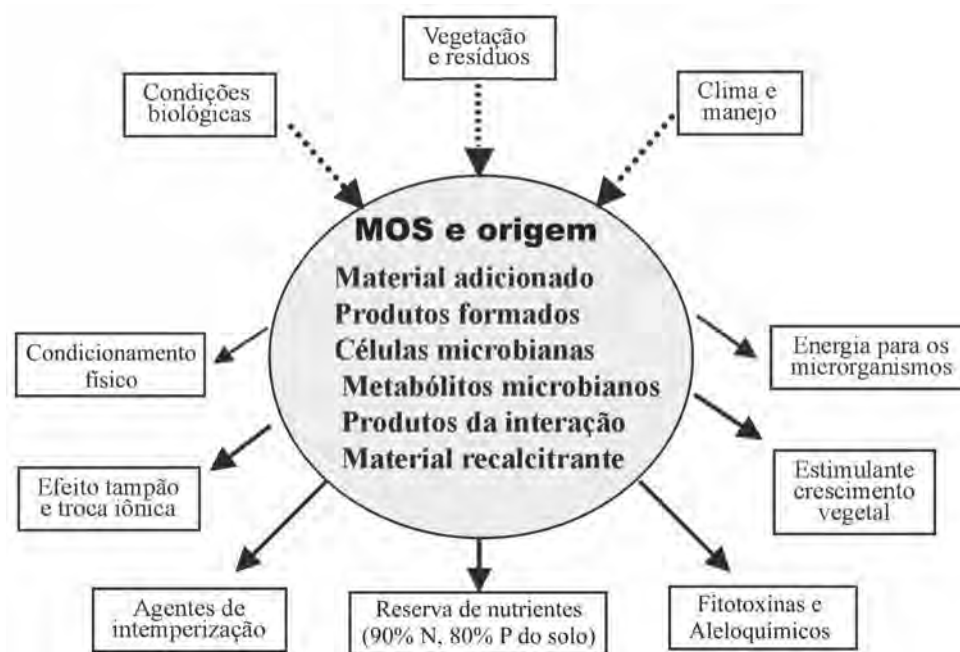


Figura 5.10. Composição, origem da MOS e principais fatores determinantes da quantidade (--->) e prováveis efeitos (—>) no sistema solo-planta.

Estimativas da quantidade de C adicionada e armazenada nos solos em diferentes ecossistemas mundiais (**Tabela 5.9**) indicam que a adição de carbono é máxima nas florestas tropicais e em áreas cultivadas, onde a produção de fitomassa é favorecida em comparação com as florestas temperadas, que apresentam limitações climáticas ou nutricionais para a produção primária. Nas florestas boreais e áreas encharcadas, encontram-se as maiores densidades de C, mas a decomposição é muito limitada. Essa distribuição, aliada aos aspectos que controlam a decomposição, trazem preocupação especial com as transformações do C nas áreas tropicais e nos pântanos. Esses ambientes representam grandes reservatórios do elemento, que pode ser facilmente perdido juntamente com N, P e S como consequência da oxidação microbiana da MOS, quando as restrições à atividade heterotrófica são eliminadas.

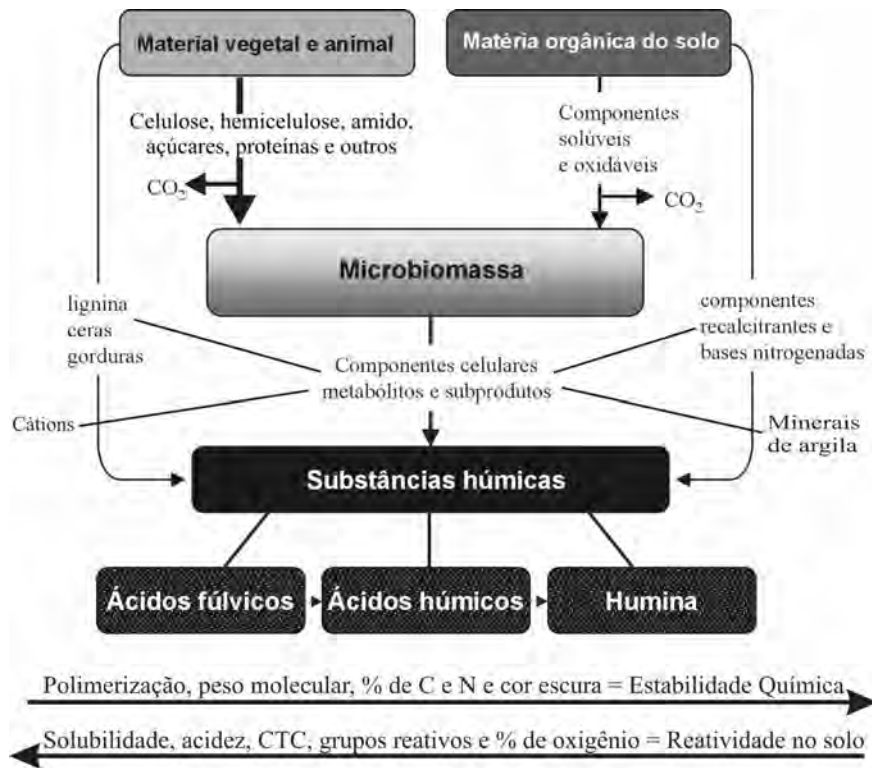


Figura 5.11. Esquema resumido das transformações e formação das frações das substâncias húmicas no solo.

Tabela 5.9. Estimativas do estoque e densidade de carbono orgânico do solo (COS) em diversos ecossistemas mundiais (Lal, 2004).

Ecossistemas	C-depositado	Densidade COS	Estoque global COS
	---bilhões Mg C ano ⁻¹ ---	-----Mg ha ⁻¹ -----	-----bilhões Mg C-----
Florestas tropicais	13,2	122	214
Florestas temperadas	3,1	121	127
Florestas boreais	0,8	295	404
Savanas tropicais	11,5	113	255
Campos temperados	-	139	185
Tundras	0,9	124	118
Desertos	0,6	38	175
Áreas cultivadas	10,2	91	146
Áreas encharcadas	15,3	643	225

A baixa atividade biológica nos solos sob florestas temperadas imposta principalmente pelas baixas temperaturas e disponibilidade de água e fraca qualidade dos resíduos, resulta no acúmulo da maior parte do carbono na superfície do solo, formando mantos espessos que imobilizam grande quantidade de C e nutrientes.

Em ecossistema de vegetação rasteira graminóide, a morte das raízes representa a principal fonte de carbono para o solo. Em uma pradaria da América do Norte em equilíbrio, Schlesinger (1977) estimou que 8.000 kg de C ha⁻¹ são depositados pelas raízes e cerca de 5.000 kg de C ha⁻¹ acumulam-se no solo como matéria morta não decomposta. Num balanço geral, em torno de 4.190 kg de C ha⁻¹ são perdidos como CO₂ para a atmosfera, enquanto 100 kg de C ha⁻¹ são incorporados no húmus anualmente, resultando no acúmulo de algo próximo a 100.000 kg ha⁻¹ dessa fração. Nesse ecossistema, a fração orgânica não decomposta é reciclada em 10 anos; os ácidos fúlvicos, a cada 100 anos, e os ácidos húmicos e humina, que exibem elevada estabilidade química, demoram cerca de 1.000 anos para ser reciclados, acumulando-se lentamente no perfil do solo e passando a fazer parte definitiva da sua fração coloidal. Devido à sua baixa reatividade e resistência à decomposição, a fração húmica contribui pouco para o fluxo anual de C no sistema, mas, por ser a maior fração do COS e influenciar seu comportamento, torna-se de grande importância no contexto agrícola e ambiental.

5.6. Compartimentalização e frações da MOS

5.6.1. Compartimentos e transformações

Em vista da heterogeneidade e complexidade funcional da MOS, tornaram-se necessárias abordagens que permitam avaliar a dinâmica dos componentes da MOS, em função da estabilidade química desses e vinculações das frações com características comportamentais da MOS. Existem vários conceitos ou sistemas de classificação das frações da MOS, como exemplificado na **figura 5.12** e na **tabela 5.10**, que inclui também o tempo de residência, a função principal de cada fração e fatores controladores. Como visto naquela figura, o estoque de material orgânico (Qt) encontrado no solo e a meia-vida ($t_{1/2}$) aumentam as frações consideradas decomponíveis em relação àquelas quimicamente protegidas, confirmando as estreitas relações entre formas e frações previstas nos modelos de dinâmica. Na decomposição, todos os componentes do resíduo (fração decomponível e resistente) entram no processo de transformação pela biomassa microbiana, alterações e interações químicas para outras frações (Figura 5.11) protegidas química e fisicamente, que, por serem resistentes à decomposição, apresentam alta taxa de residência, acumulando-se no solo ao longo do tempo. Como ilustrado na figura 5.12, à medida que a constante de decomposição (K) diminui, a permanência medida pela meia-vida ($t_{1/2}$) aumenta, variando de 0,16 a quase 2.000 anos, dependendo da fração. Como já visto, o carbono transformável dos restos orgânicos passa primeiro pela biomassa microbiana, estabilizando-se em formas polimerizadas, estabilizadas física e/ou quimicamente nos estádios mais avançados da humificação. A elevada estabilidade química de certas frações orgânicas resulta da alta recalcitrância das substâncias que as compõem, da reduzida velocidade das transformações que elas sofrem e de mecanismos de proteção contra a decomposição,

como a formação de complexos com argilominerais no solo. Isso explica, pelo menos em parte, os teores mais elevados de matéria orgânica em solos mais argilosos.

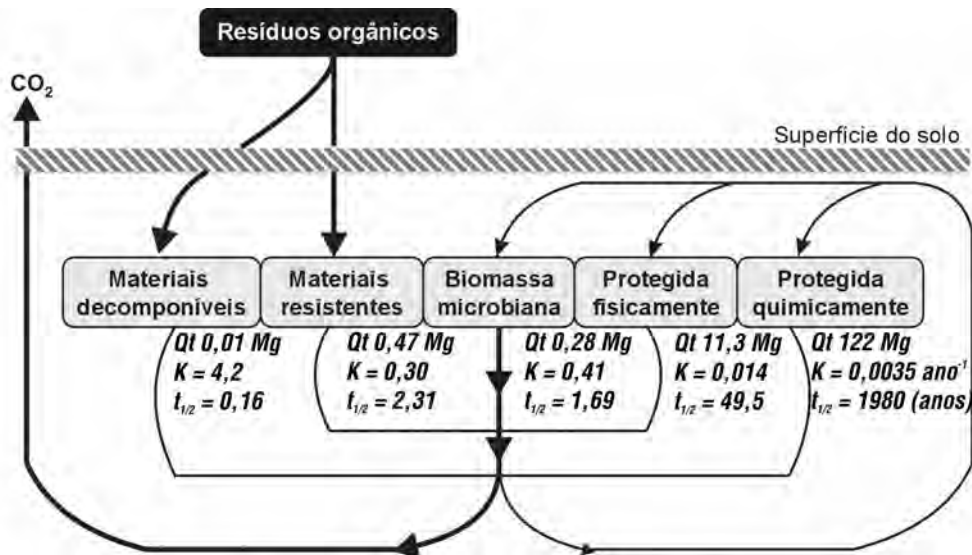


Figura 5.12. Representação da dinâmica da transformação, alterações e inter-relações das frações determinantes da dinâmica da MOS durante a decomposição. Qt = estoque de carbono; K = constante de decomposição e $t_{1/2}$ = meia-vida da fração. (Duxbury et al., 1989.)

Outros modelos desenvolvidos para essa finalidade adotam compartimentos funcionais diferentes. Cada compartimento tem composição básica definida, desde constituintes celulares à matéria orgânica particulada e complexos organominerais estáveis. Modelos alternativos consideram o estoque lábil ativo e estoque lábil "lento", cujo tempo de reciclagem varia de 0,2 a 1,4 ano e de 8 a 50 anos respectivamente, e estoque passivo de C, que é representado pelas substâncias húmicas que se apresentam quase estáticas no solo, isto é, sofrem poucas transformações em termos relativos às demais frações orgânicas do solo. Outro aspecto de grande interesse funcional para a Bioquímica do Solo é o estoque relativo de C e N nos diferentes componentes da fração orgânica como exemplificado para um ecossistema de grama na **tabela 5.11**. Salienta-se o reduzido tempo de reciclagem dos componentes vivos do ecossistema em comparação à MOS, o que, de certo modo, permite inferir sobre a importância das plantas e dos organismos sobre os processos que garantem a funcionalidade do ecossistema.

Na tentativa de entender melhor a dinâmica da MOS, compartimentos funcionais específicos são empregados em modelagens. Muitos deles são apenas denominações distintas para frações semelhantes, sem levar em conta suas características químicas. Uma terminologia genérica de frações muito empregada é bem próximo do que é apresentado na tabela 5.10: a) *C-biomassa (BIO)*; b) *C-lábil (LAB)* não protegido, que incluem materiais parcialmente decompostos, resíduos microbianos, células vivas e produtos da transformação. Essa fração contém de 25 a 30% do N potencialmente mineralizáveis da MOS;

Tabela 5.10. Frações e tempo médio de residência do carbono da matéria orgânica (MO) do solo, principais funções e fatores de controle de cada fração (Duxbury et al., 1989).

Frações	Residência	Função principal	Fatores de controle
A) Biomassa vegetal viva	0,25 ano	- reciclagem de nutrientes - proteção do solo (erosão) - produção agrícola	- sistemas de produção/tipo de cultura; fertilidade do solo; água; temperatura e radiação solar
B) Resíduos vegetais, raízes e exsudatos	0,25 ano	- substrato para a biota - proteção do solo (erosão) - fonte de nutrientes	- compartimento A - tipo de resíduo (relação C/N) - grau de trituração e de incorporação dos resíduos - temperatura e umidade
C) MO não protegida			
C ₁ - Biomassa microbiana	0,25 ano	- decomposição e enzimas - agregação temporária - fonte de nutrientes	- tipo e magnitude do compartimento B - fertilidade do solo; temperatura e umidade - grau de revolvimento do solo
C ₂ - Lável (> 50 μm)	2 a 5 anos	- energia e nutrientes - agregação, complexo de troca	- compartimento A e B - temperatura e umidade, revolvimento do solo - idade da matéria orgânica
D) MO protegida			
D ₁ - proteção estruturalmente	< 100 anos	- agregação permanente - complexo de troca - condição física	- compartimentos A, B e C - revolvimento e textura do solo, destruição dos agregados
D ₂ - proteção coloidal	até 1000 anos	- agregação permanente - complexo de troca - condição física	- compartimentos A, B e C - revolvimento do solo, textura e mineralogia

c) *fração protegida fisicamente (POM)* nos agregados e interagregados de solos não cultivados (C-seqüestrado nos poros) e d) *fração protegida quimicamente* pelas interações com colóides orgânicos ou minerais (*COM*). O tempo de reciclagem, medida da estabilidade química e da dinâmica da fração varia para cada uma delas, assim como o controle primário do estoque de cada compartimento ou fração. A *LAB* é controlada pela decomposição e pela adição de restos vegetais, que dependem do clima; a *POM*, pelo estado de agregação, distribuição do tamanho de partículas ou cultivo do solo, e a *COM*, por mecanismos químicos determinados principalmente pela mineralogia e textura do solo. Essas frações estão continua-

232 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

Tabela 5.11. Estimativas da compartimentalização do C e N, relação C:N e tempo de reciclagem em ecossistema de gramíneas (Modificado de Klein et al., 1990).

Componentes	Quantidades		C:N aproximada	Tempo de reciclagem
	C	N		
	-----kg ha ⁻¹ -----			-----anos-----
Planta-parte aérea	1130	20	56	1-2
-raízes vivas	880	23	38	3-4
-raízes e coroa	5910	276	22	3-4
Bactérias e fungos	367	82	5	0,7
Protozoários	3,9	0,5	7	0,17
Nematóides	8,5	0,9	10	0,5
Insetos do solo	3,3	0,2	8	0,6
Matéria orgânica do solo	13270	1270	10	100-1000

* na camada de 0-10 cm de profundidade

mente sendo decompostas e renovadas quando há novas adições de materiais orgânicos ao solo e seu tempo de reciclagem aumenta da *BIO* até a *COM* ($BIO < LAB < POM < COM$), podendo variar de meses a séculos (Duxbury et al., 1989).

As funções da MOS para a qualidade do solo, assim como suas alterações, dependem da qualidade da MOS, ou seja, de suas frações ou compartimentos. Por isso, embora seja considerado um bom indicador da qualidade do solo, o teor total de carbono orgânico é pouco informativo em termos de dinâmica e função da MOS nos processos do solo. Silveira et al. (2000) avaliaram os efeitos de mudanças no uso da terra no estoque de carbono e frações da MOS da camada arável do solo empregando simulação com o modelo CENTURY, que considera o carbono do solo distribuído em apenas três frações denominadas ativa, lenta e passiva. Seus principais resultados encontram-se na **tabela 5.12**, mostrando reduções acentuadas de quase 50% (61,5 para 35,4 Mg ha⁻¹) no estoque de carbono na camada arável, devido ao cultivo do solo por 50 anos com cana-de-açúcar, sendo essas reduções mais acentuadas (60%) para as frações ativas e lentas da MOS. Para a fração passiva, que é muito resistente à decomposição, houve redução de apenas 11% no solo com cana. Portanto, o carbono do solo concentra-se na fração passiva, atingindo 70% do estoque do solo após 50 anos com cana-de-açúcar, enquanto no solo da mata essa representava apenas 43% de seu estoque de C. As frações ativas e lentas da MOS, embora representem pouco do estoque total, são as mais suscetíveis a alterações causadas pelo uso da terra.

Estudos desenvolvidos com solos de Sierra Nevada na Califórnia empregando C-radioativo mostraram que o regime térmico também tem grande influência na dinâmica das frações orgânicas do solo. Os mais quentes contêm menos C-lábil do que aqueles com temperaturas mais baixas. Isso reflete os efeitos estimulantes na elevação da temperatura na oxidação biológica das frações de reciclagem mais rápida.

Tabela 5.12. Quantidade total e frações de matéria orgânica do solo ($\text{Mg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$) obtidas por simulação com o modelo CENTURY para solos sob diferentes sistemas de uso em São Paulo (Silveira et al., 2000).

Tipo de uso da terra	Estoque de C (0 – 20 cm)	Frações da matéria orgânica		
		Ativa	Lenta	Passiva
Floresta nativa*	61,5	1,24	31,81	26,78 (43%)**
Cana-de-açúcar (12 anos)	44,0	0,64	16,16	25,56 (58%)
Cana-de-açúcar (20 anos)	36,5	0,54	11,79	23,47 (64%)
Cana-de-açúcar (50 anos)*	35,4	0,44	9,33	25,08 (70%)
Pastagem (20 anos)	47,0	1,38	20,32	23,97 (51%)

* Produção primária em $\text{Mg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ foi de 6,6 e 80 para floresta e cultura da cana-de-açúcar respectivamente.

** Proporção relativa do estoque de C do solo

5.6.2. As substâncias húmicas (húmus)

Como ilustrado na figura 5.11, o húmus do solo é formado por moléculas recalcitrantes de origem vegetal e microbiana, combinadas através de reações de polimerização e ressíntese, com compostos fenólicos derivados da lignina (Figura 5.8), como o fenil-propanos. Esses núcleos químicos são condensados com a ajuda de elementos metálicos em arranjos moleculares complexos e de alta estabilidade química. O húmus não representa substâncias químicas específicas, mas, sim, “um estado indefinido e confuso da MOS”.

No enfoque da microbiologia funcional do solo, o húmus pode ser considerado um subproduto das transformações que os materiais orgânicos sofrem no solo. Mesmo com os recursos da Química Moderna, a estrutura molecular das substâncias húmicas é ainda pouco conhecida e assunto de muitos estudos, especulações e controvérsias. O conceito estrutural mais aceito considera as substâncias húmicas como polifenóis remanescentes da lignina. Em função da sua solubilidade relativa em álcali e ácidos, as substâncias húmicas são grosseiramente separadas em: ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina, cujas propriedades principais são apresentadas na figura 5.11. Essas frações são constituídas basicamente de 30% de aminoácidos, 5 a 20% de carboidratos, 40 a 60% de compostos aromáticos derivados da lignina e em torno de 2% de lipídios, resinas e outros componentes (Stevenson, 1986). Embora seja ainda tema em debate, as prováveis estruturas químicas básicas dos ácidos fúlvicos e húmicos acham-se na **figura 5.13**, que mostra o caráter mais alifático (menos condensado) dos ácidos fúlvicos e condensado dos ácidos húmicos. Essas características estruturais conferem os comportamentos distintos assumidos para tais frações no solo.

A fração orgânica humificada, além de fazer parte da matriz do solo na forma de colóides orgânicos, exerce profundos efeitos nas suas propriedades e influencia também, direta ou indiretamente, as plantas e organismos. Os principais efeitos potenciais do húmus no solo e nas plantas são os seguintes:

- melhora as condições físicas como: agregação, aeração, retenção de umidade e permeabilidade;
- aumenta a superfície específica, CTC e efeito tampão, conferindo maior estabilidade ao solo;
- atua como agentes de complexação, quelação e retenção de nutrientes e xenobióticos;

- d) exerce efeitos fisiológicos na permeabilidade de membranas, absorção de nutrientes, atividade enzimática e fotossíntese;
- e) exerce ação protetora e atua como fonte de nutrientes para certos microrganismos do solo;
- f) atua como reservatório de N, P, S e micronutrientes.

A melhoria nas propriedades físicas do solo reduz sua suscetibilidade à erosão e, assim indiretamente, os danos ambientais que essa causa, como degradação do solo, poluição e assoreamento de mananciais hídricos. A elevada área de superfície e capacidade de troca de cátions (CTC) contribuem para o aumento do efeito tampão químico no solo. Pelo seu caráter anfótero, atua como reservatório tanto de cátions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ e micronutrientes), quanto de ânions (HPO_4^{2-} e SO_4^{2-}). A CTC do húmus é altamente dependente do pH e pode representar de 20 a 70% da CTC total do solo, assumindo grande importância nos solos arenosos ou dominados por argilominerais de baixa atividade. Isso aumenta a retenção de elementos metálicos (nutrientes e metais pesados), moléculas de xenobióticos e formação de complexos húmus-argilominerais. Além de reter nutrientes nos sítios de troca, pode atuar como reservatório de N, P e S, que fazem parte da sua constituição química. As substâncias húmicas contêm até 90% do N e 80% do P orgânico do solo, mas a liberação desses nutrientes é geralmente muito pequena devido à resistência dessas frações à decomposição. A estabilidade química dos elementos na molécula aumenta com o grau de humificação da fração orgânica do solo (idade), especialmente no caso do N-orgânico.

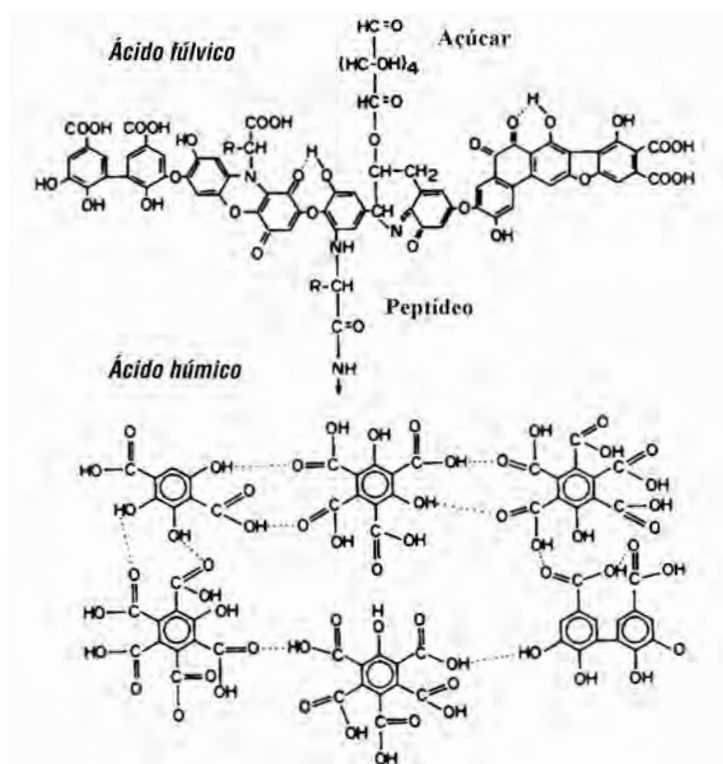


Figura 5.13. Possíveis estruturas químicas representativas de substâncias húmicas: ácidos fúlvicos e húmicos.

As substâncias húmicas e outros componentes da MOS podem exercer efeitos fisiológicos diretos sobre as plantas, atuando como aceptores de elétrons e como fonte de vitaminas, substâncias reguladoras do crescimento vegetal e agentes antimicrobianos. Embora recalcitrantes, como já mencionado, as substâncias húmicas podem servir de fonte de energia para alguns microrganismos especializados do solo. Atuam também como agentes quelantes que reduzem a toxicidade de metais e poluentes, modificam membranas retardando a plasmólise de células microbianas e indiretamente melhoram o ambiente físico-químico do *habitat*, favorecendo a sobrevivência e a atividade microbiana. No crescimento das plantas, por atuar como aceptores de H^+ , as substâncias húmicas aumentam a respiração, o teor de clorofila e a fotossíntese, além da síntese de ácidos nucléicos e proteínas. Além de armazenar água e nutrientes, o húmus tem elevado poder “tampão químico e biológico”. Essas substâncias são, portanto, importantes reguladores funcionais dos processos químicos e biológicos do solo e das plantas, representando, por isso, um dos pilares da sustentabilidade dos ecossistemas terrestres.

5.6.3. Substâncias orgânicas não humificadas

No solo ocorrem também inúmeras outras substâncias orgânicas oriundas do metabolismo secundário vegetal e microbiano, ativas em vários processos do sistema solo-planta. Metabólitos vegetais, produtos da transformação dos materiais orgânicos sintetizados pela microbiota podem apresentar elevada atividade química sobre microrganismos e processos bioquímicos do solo, de sementes e plantas, atuando como aleloquímicos, fitotoxinas, reguladores do crescimento vegetal e de processos químicos no solo e até mesmo como sinais moleculares em relações diversas entre organismos dissimilares (**Figura 5.14**), tornando-se importantes reguladores funcionais dos ecossistemas. Aleloquímicos são substâncias naturais bioativas sobre as plantas, microrganismos e insetos, podendo exercer efeitos estimulantes ou inibitórios nesses.

Substâncias de origem vegetal

As substâncias de origem vegetal atingem o solo diretamente por exsudação das plantas, ou através da decomposição dos resíduos vegetais, como ilustrado na **figura 5.15**. Essas são de natureza diversa, mas os carboidratos, terpenos, esteróides e gorduras – derivadas do metabolismo dos açúcares e alcalóides – proteínas e fenil propanóides – derivados dos aminoácidos – são os mais comuns e que exercem maiores influências no sistema solo-planta-organismos (**Tabela 5.13**). No solo, juntamente com compostos de origem microbiana, interagem fortemente com os colóides e podem também sofrer transformações microbianas responsáveis pela sua desativação ou desaparecimento dessas substâncias. Um grupo de substâncias muito ativas e encontradas em abundância no solo, são os compostos aromáticos, que podem inibir a germinação de sementes e o crescimento de plântulas; reduzir ou favorecer a absorção de nutrientes (e.g. N, P e micronutrientes); interagir com enzimas e substâncias promotoras de crescimento e exercer efeitos microbiostáticos na comunidade do solo.



Figura 5.14. Mecanismos e efeitos dos compostos orgânicos bioativos sobre os componentes dos ecossistemas e processos interfaciais.



Figura 5.15. Fontes, transformações e retiradas de compostos aleloquímicos (fitotoxinas) da solução do solo. (Siqueira et al., 1991b.)

Tabela 5.13. Exemplos da atividade de substâncias orgânicas não húmicas encontradas no solo ou na rizosfera (Siqueira et al., 1991b).

Atividade	Exemplo de substância
Fitotóxica (aleloquímica)	Coumarina, tricina, vitexina, t-ácido cinâmico, umbeliferona, juglona, escopuletina, ácido <i>p</i> -aminobenzóico, ácido ferúlico, quercetina, ácido metilendioxicinâmico (MDCA) e ácido hidroxâmico.
Fisiologia e nutrição vegetal	Isovitexina, ácido cafêico, ácido ferúlico, flavonóides, chalcones, ácidos cinâmicos, ácido clorogênicos, ácidos hidroxâmicos, ácidos psídicos, capilarol e ácido capilárico.
Antifúngica	Catecol, ácidos fenólicos, metilferulato, engenol, pirogalol, quinonas, ácidos salicílicos, isoflavonóides.
Antibacteriana	Ácidos fenólicos, pisatina, phaseolina, kienitone, quercetina, taninos, flavonóides, tricina.
Nematistática	Coumestran, rotenona, gliceolina.
Sinais moleculares	Derivativos dos sesquiterpenóides e hidroquinona (strigol), fenólicos xenognosínicos, hesperetina, dipteroicarpol, flavonóides, acetosiringone e ácidos hidroxâmicos.
Inibidores de processos	Ácido <i>p</i> -coumárico, siríngico, vanílico, ferúlico e <i>P</i> -hidroxibenzoico, myrcetina, quercetina – galactosídeo, 3,4-7 hidroxiflavona e taninos.

Compostos alifáticos (como o etileno), substâncias promotoras de crescimento e ácidos orgânicos alifáticos são também normalmente encontrados no solo e merecem consideração. O etileno, por exemplo, acumula no solo ou em “microhabitats” anaeróbios, interferindo no crescimento das raízes e dos microrganismos associados. Ácidos orgânicos alifáticos, tais como acético, propiônico e butírico, resultantes de processos fermentativos em locais com deficiência de O₂, interferem nas características físico-químicas do solo, inibem a germinação de sementes e causam injúrias às raízes e fitotoxicidade em plântulas. Esses compostos geralmente se acumulam em solos que recebem grande quantidade de restos vegetais, como palhas de cereais, em condições que retardam a decomposição observada em solos maldrenados e compactados com aeração deficiente. O acúmulo dessas substâncias em tais condições contribui para a baixa produtividade, tornando-se problema freqüente em solos agrícolas das regiões temperadas. Nessas condições, a queima dos restos culturais (palhas) é praticada para minimizar os danos que causam às culturas. Em solos tropicais, entretanto, o excesso de palha com alta relação C:N só causa problema quando grande quantidade é aplicada e a cultura, plantada logo após a adição da palha. Mesmo assim, esse efeito é de curta duração e pode ser eliminado pela adição de N-mineral que acelera a decomposição.

Como as plantas são as principais fontes dessas substâncias, elas diferem em função do ecossistema, embora as mais comuns sejam encontradas em vários deles, conforme exemplos na **tabela 5.14**. Uma cultura de sorgo, por exemplo, pode adicionar até 100 kg ha⁻¹ de compostos fenólicos com ação aleloquímica ao solo (Siqueira et al., 1991b), e se estes não fossem submetidos aos processos de dissipação, certamente trariam sérios problemas. Também a lignina, após degradação microbiana (ainda que muito lenta) produz, além de outros ácidos fenólicos, o ferúlico, que é bioxidado aos ácidos vanílicos e caféico que são transformados em protocatéico, evitando seu grande acúmulo no solo. Inúmeros compostos aromáticos têm sido identificados em extratos de solo, originados pela decomposição da lignina, sintetizados por fungos, liberados pelas raízes ou outras partes das plantas. Ácidos fenólicos são encontrados em concentrações de 2,1 a 4,4% da MOS em ecossistemas de gramíneas, onde ocorrem associados à parede celular das plantas, conjugados com moléculas de açúcar (glicosídeos), dificultando a decomposição do resíduo. Elas apresentam relação direta com certos processos do ecossistema, inclusive os microbianos, como exemplificado na **tabela 5.15**. Portanto, ao mesmo tempo em que os microrganismos liberam compostos bioativos dos resíduos em decomposição, contribuem para a eliminação dessas “toxinas naturais” do solo por meio da decomposição. Seus efeitos inibitórios diminuem com a decomposição e diferem em função do resíduo e do tempo de decomposição (**Figura 5.16**). Os aleloquímicos podem ser imobilizados na fase sólida, estabelecendo equilíbrio com a solução do solo, podendo sofrer degradação ou até mesmo lixiviação (**Figura 5.15**) em solos arenosos.

Tabela 5.14. Compostos aleloquímicos geralmente encontrados em solos de diferentes ecossistemas (Siqueira et al., 1991b).

Ecossistema	Exemplos de compostos aleloquímicos freqüentemente encontrados
Cafeeiro	Ácido caféico, ácido <i>p</i> -coumárico, ácido ferúlico, ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico, escopoletina, ácido clorogênico e cafeína.
Aspargus	Ácido 3,4-dihidroxibenzóico, ácido caféico, ácido ferúlico e ácido metileno dioxicinâmico (MDCA)
Cereais	Ácido <i>O</i> -hidroxifenilacético, escopoletina, ácido ferúlico, ácido vanílico, tricina hidroquinonas, patulina, ácidos salicílico e hidroxâmico.
Frutíferas	Florizina, <i>p</i> -hidroxibenzóico, floretina, floroglucinol, quercetina e quercetrina
Florestais	Mimosina, ácidos protocaecóico, <i>p</i> -coumarilquinico, ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico e <i>p</i> -hidroxifenilacético, taninos, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido gentístico, juglona, escopoletina e taxofolina.
Pastagens	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico, ácido ferúlico, <i>p</i> -coumárico, vanílico, genisteína, biochanina A, formononetina, trifolirrizina e escopoletina.

Tabela 5.15. Processos bioquímicos e microbiológicos que podem ser influenciados por compostos orgânicos bioativos no solo.

Processo	Exemplos de efeitos
Decomposição	Inibida por vários aromáticos ou derivativos (ex: taninos).
Amonificação	Atividade dos amonificadores é inibida por vários compostos na rizosfera e no solo.
Nitrificação	<i>Nitrosomonas</i> e <i>Nitrobacter</i> são muito sensíveis a diversos aleloquímicos.
Desnitrificação	Aromáticos podem atuar como substratos, facilitando a desnitrificação.
Fixação biológica	Presença de bacteriostáticos nas sementes e indutores gênicos da nodulação na rizosfera das leguminosas
Absorção vegetal	Funções radiculares são afetadas por concentrações tóxicas de vários compostos aromáticos. Já alguns compostos favorecem a absorção de micronutrientes, como Fe e P.
Patógenos de solo	Alguns aleloquímicos alteram o equilíbrio microbiológico no solo e a suscetibilidade das plantas aos patógenos. Outros são microbiostáticos para certos grupos de microrganismos.
Ataque de nematóides	Vários compostos atuam como nematicidas (rotenona em crotalária) ou nematostáticos (glicidina na mobilidade e encistamento).
Micorrizas	Vários compostos aromáticos estimulam (formononetina) ou inibem (em altas concentrações) fungos micorrízicos.

O desaparecimento dessas substâncias é lento em solo estéril, o que evidencia o envolvimento dos microrganismos no processo e contribui para eliminar as toxinas naturais do solo. O potencial fitotóxico dessas substâncias é, portanto, controlado pela atividade microbiana, responsável por transformações nos seus precursores e a degradação ou destoxificação de formas ativas no solo, ou mesmo sua ativação, como mostrado na **figura 5.17** para ácidos benzoxazolinônicos em resíduos de centeio, trigo e milho. Nesses resíduos, os derivados de benzoxazolinonas ocorrem em formas glicosídicas ou metiladas dos respectivos ácidos, as quais são inativas ou de baixa atividade fitotóxica. No entanto, no solo sofrem transformações em sua grande maioria, produzindo formas de alta fitotoxicidade como AZOB e MAZOB. Embora algumas etapas dessas transformações sejam abióticas, a participação de microrganismos é evidente e essencial para a dinâmica e atividade das substâncias no solo. Do mesmo modo, outras substâncias precisam sofrer alterações para tornar aleloquímicas (**Tabela 5.16**).

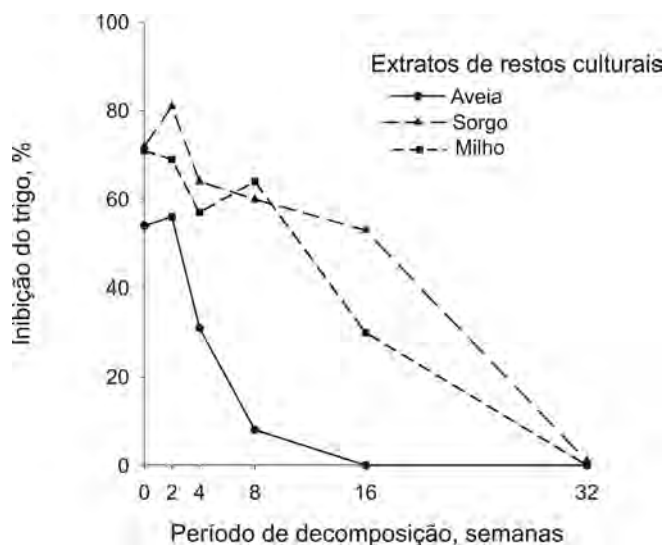


Figura 5.16. Atividade tóxica de extratos de restos culturais de aveia, sorgo e milho para o crescimento de raízes de trigo em diferentes períodos de decomposição. (Guenzi et al., 1966.)

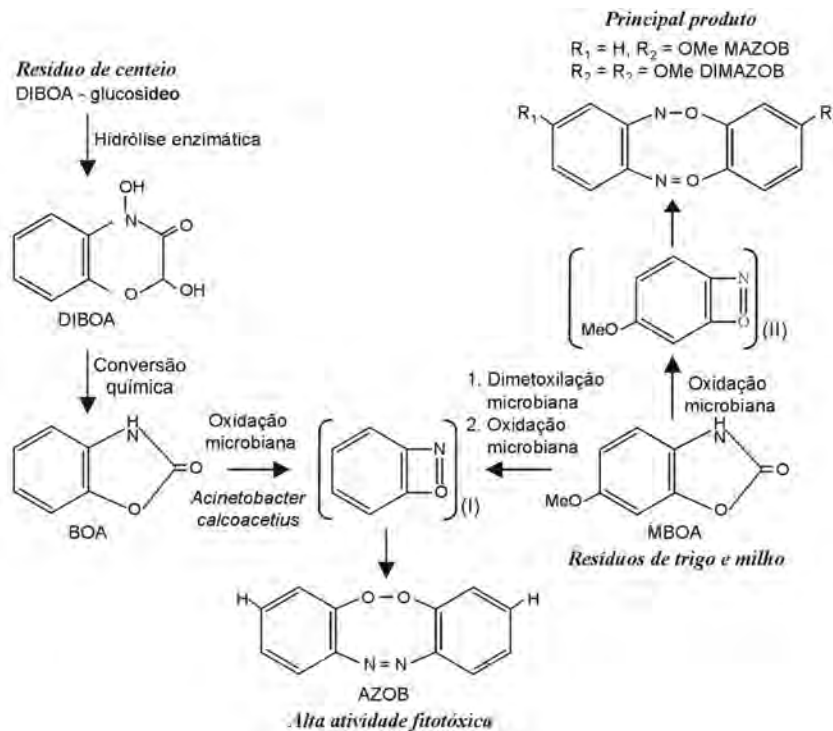


Figura 5.17. Transformação microbiana de derivados de benzoxazolinona em resíduos de gramíneas no solo. (Siqueira et al., 1991b.)

Outro exemplo disso é a hidrólise de glicosinolatos (glicosídeos sulfurados) das crucíferas, potentes inibidores biológicos, mas que, na planta, estão inativos. Na decomposição dos tecidos ou em resposta a danos do tecido vegetal, esses compostos sofrem hidrólise enzimática (tioglicosidase) produzindo tiocianatos e nitrilatos, produtos voláteis tóxicos para diversos organismos, especialmente para os fungos. Em algumas situações a incorporação de resíduos de crucíferas ao solo é uma eficiente prática para controle de doenças fúngicas devido à hidrólise dos glicosinolatos. Esses produzem compostos voláteis bioativos, são capazes de controlar fitopatógenos, sendo a base de um processo natural conhecido por *biofumigação do solo* (Angus et al., 1994). Em outros casos, a substância bioativa sofre degradação, como ocorre com a cafeína, que possui atividade biológica de largo espectro, atuando sobre microrganismos e insetos e ação alelopática para plantas invasoras, podendo agir como herbicidas naturais. Ao redor de plantas velhas de café, acumula-se grande quantidade de restos vegetais, como folhas no solo (150 a 200 g de matéria seca $m^{-2} \text{ ano}^{-1}$) que liberam de 1 a 2 g $m^{-2} \text{ ano}^{-1}$ de cafeína ao solo, além de outros compostos. Isso pode estar envolvido na degeneração precoce da cultura (declínio) pelas ações diretas dessas substâncias sobre a planta ou indiretas sobre o equilíbrio da biota do solo, alterando o balanço entre microrganismos protetores e patógenos. Situação semelhante é bem documentada para outras culturas como: aspargos, arroz e cana-de-açúcar. Entretanto, como exemplificado para a cafeína, esses compostos naturais podem sofrer decomposição microbiana, produzindo compostos benéficos como a uréia (**Figura 5.18**), o que pode melhorar a nutrição da cultura. Portanto, é interessante e necessário conhecer mais sobre as transformações da cafeína no solo e seus efeitos sobre a comunidade microbiana e seus reflexos no agrossistema cafeeiro.

Outro aspecto de interesse especial para a Bioquímica do Solo é a possibilidade de interferência desses compostos nas transformações do N do solo. Há evidências experimentais de que essa interferência possa ocorrer das seguintes maneiras (Siqueira et al., 1991b):

a) inibindo a amonificação e aumentando a imobilização do N no solo. O teor de taninos e a relação lignina/nitrogênio são fatores importantes nessa relação, pois, quanto maior esta, menor a decomposição do resíduo e maior a imobilização do N na MOS. Ao mesmo tempo em que isso mantém o N na MOS, pode diminuir a reciclagem e a disponibilidade desse elemento para as plantas;

b) inibindo a nitrificação e favorecendo a desnitrificação, servindo de substratos orgânicos que estimulam este último processo. A reduzida taxa de nitrificação verificada em ecossistemas dominados por gramíneas, em florestas e na rizosfera de várias espécies como nabo, alface, centeio, trigo, cebola, girasol e algumas árvores nativas tem sido atribuída à presença e ação inibidora de fenólicos e terpenóides sobre as bactérias nitrificantes. Isso é de grande interesse para o manejo do N do solo e para a sucessão vegetal. Oxidantes de NH_4^+ são inibidos por ácidos fenólicos em concentração de 1 a 10 μM e por flavonóides como quercetina e myrcetina em concentrações de 10 a 100 μM . A nitrificação é também inibida até em 80% na rizosfera do centeio; acredita-se que isso se deva à liberação de substâncias inibidoras. Entretanto, existem outros fatores além dos aleloquímicos, derivados de plantas, que reduzem a nitrificação em ecossistemas florestais (Bremner & McCarty, 1993). Em tais situações, é necessário diferenciar a ação de inibidores naturais, da falta de NH_4^+ (substrato para nitrificação) onde sua absorção de nutriente é elevada;

242 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

Tabela 5.16. Exemplos de substâncias precursoras de aleloquímicos fitotóxicos, cuja transformação para liberação no solo é mediada por processos biológicos (Siqueira et al., 1991b).

Hidrojuglone (<i>Juglans nigra</i>)	oxidação	Juglone (poderoso alelopático) (Degradado por <i>Pseudomonas J₁</i>)
Isoflavonas (<i>Trifolium subterraneum</i>)	degradação	Fenólicos tóxicos em pastagens
Florizina (Raízes de Rosaceae)		Floretina → Floroglucinol (Doença do replantio)
DIBOA-glicosídeo (Resíduo de centeio)	hidrólise oxidação	BOA e AZOB (Alta atividade fitotóxica)
MBOA (Resíduo de trigo e milho)	oxidação microbiana	MAZOB, AZOB (Fitotóxico)
Lignina (madeira)	degradação	Ácido ferúlico e outros fenólicos ativos
Vitexina (semente de leguminosas)	liberada na germinação	Inibe microrganismos, controla dormência e crescimento de plântulas

c) dependendo da substância e da sua concentração, os aleloquímicos podem reduzir a absorção de N-mineral pelos microrganismos e pelas raízes. Sabe-se que vários aleloquímicos inibem os microrganismos, incluindo simbioses radiculares como rizóbio, fungo micorrízico e patógenos radiculares, que podem alterar a absorção de nutrientes e a nutrição de plantas;

d) flavonóides liberados na germinação das sementes e pelas raízes são indutores gênicos essenciais para a nodulação das leguminosas pelo rizóbio e, assim, interferem indiretamente na aquisição de N por essas plantas e na adição de N aos ecossistemas. Também outros compostos aromáticos podem estimular ou inibir a micorrização e, assim, interferir na absorção de N e nutrição nitrogenada das plantas. Maiores informações sobre este aspecto encontram-se nos capítulos sobre FBN e micorrizas.

Os aleloquímicos, portanto, interferem no funcionamento dos ecossistemas através de seus efeitos sobre os microrganismos, processos biológicos, direta ou indiretamente, nas plantas (Figura 5.14) e seus efeitos como pesticidas naturais, e atividades fitotóxicas para as culturas têm sido bastante estudados. Como se vê na figura 5.16, extratos de restos de certas culturas podem inibir o crescimento de plântulas de culturas importantes. Os resíduos de sorgo e milho têm efeito inibitório mais intenso e de maior duração que aqueles de aveia, cuja duração pode atingir 16 semanas após a aplicação dos

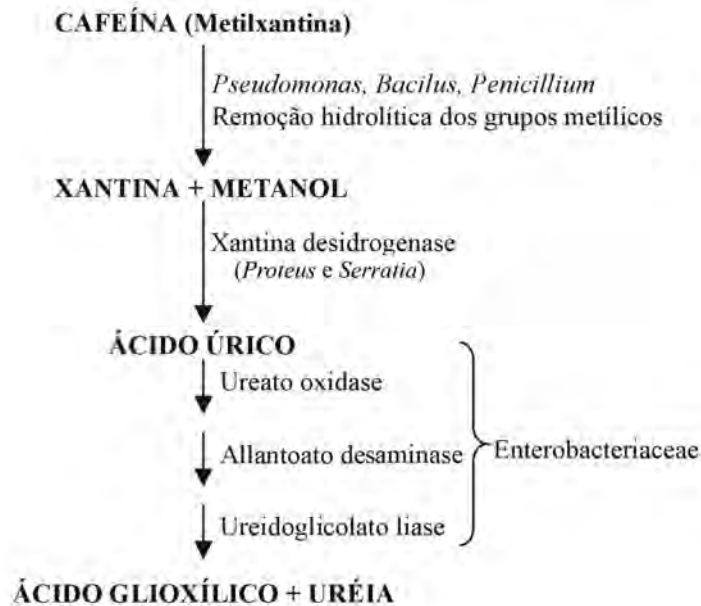


Figura 5.18. Seqüência de degradação da cafeína no solo e exemplos de microrganismos mediadores. (Stevenson, 1986.)

restos vegetais no solo. Algumas das substâncias responsáveis por esses efeitos aleloquímicos já foram mencionadas, mas sua importância prática é ainda pouco desenvolvida. No entanto, pelo menos em certas circunstâncias, como no plantio direto, existem evidências que relacionam os aleloquímicos com a produtividade das culturas como conceitualizado na **figura 5.19**. A concentração de aleloquímicos na solução do solo é controlada por vários aspectos que determinam seus efeitos sobre as plantas e nos organismos (Figura 5.15). Como modelo típico, tem-se ausência de efeitos em concentrações baixas, efeitos positivos na medida em que se eleva a concentração, podendo atingir efeitos negativos e alcançar faixas letais para a planta. A concentração bioativa da substância e seus efeitos dependem da dinâmica e do manejo do ecossistema. Portanto, além do aspecto intrínseco da natureza química do composto, sempre que se pensar em sua atividade, deve-se considerar sua biodisponibilidade no solo. Os estudos com esse enfoque permitem constatar que:

- a) a existência de danos às plantas em condições de elevada quantidade de resíduos no solo;
- b) aleloquímicos, especialmente os de natureza fenólica, são produzidos durante a decomposição dos resíduos, mas podem ser facilmente degradados pelos heterotróficos;
- c) aleloquímicos podem ser encontrados em extratos de solo em concentrações tóxicas para plantas e microrganismos;

d) efeitos fitotóxicos podem ser demonstrados com substâncias puras aplicadas diretamente ao solo ou em solução nutritiva.

O melhor entendimento dos mecanismos reguladores da ocorrência e da ampla atividade desses produtos naturais nos processos do solo pode representar as bases para o delineamento de sistemas de rotação de cultura e manejo de restos culturais, mais eficientes, conservadores e com grandes impactos econômicos e ecológicos.

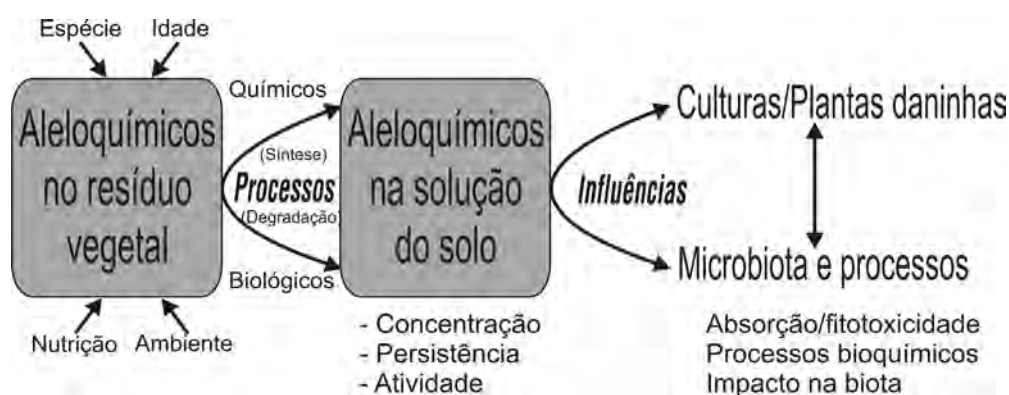


Figura 5.19. Aleloquímicos de restos culturais: processos, fatores que controlam e efeitos potenciais sobre os componentes do agrossistema.

Metabólitos microbianos

Os microrganismos do solo sintetizam milhares de metabólitos que atuam nas interações microbianas e no crescimento e desenvolvimento das plantas. São conhecidos mais de 10.000 produtos de interesse comercial como fármacos, toxinas, fitoreguladores, agentes de biocontrole, enzimas e polissacarídeos. Entre as substâncias reguladoras do crescimento vegetal, citam-se: etileno, ácido giberélico, auxinas, citocininas, ácido fusárico, abscísico e graxos, além de inúmeros outros. Através dessas substâncias, os microrganismos exercem efeitos fisiológicos e morfológicos indiretos sobre as plantas ou suas partes específicas, como as raízes. São produzidos também outros metabólitos como polissacarídeos viscosos que atuam na agregação do solo, enzimas com aplicações industriais, antibióticos, fármacos em geral e os chamados “plásticos biodegradáveis” que consistem em poli- β -hidroxibutiratos (PHBs) produzidos por certas bactérias e que atualmente têm aplicações diversas. É muito comum também a produção de toxinas como as pseudobacterinas, ácido cianídrico e substâncias quelantes especialmente do Fe, nesse caso conhecidas como sideróforos. As duas primeiras são inibidores do crescimento vegetal, enquanto os sideróforos atuam nas relações entre microrganismos

com forte influência sobre alguns patógenos de solo e na nutrição das plantas, melhorando a absorção de Fe em condições de deficiência desse elemento.

A produção de inibidores metabólicos de grande especificidade e potência (ativos em baixa concentração de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ou menores), denominados coletivamente *antibióticos*, é também extremamente comum na comunidade do solo, especialmente no grupo dos actinomicetos. Como abordado no primeiro capítulo, a Microbiologia do Solo teve participação importante na descoberta e evolução dos antibióticos e continua sendo considerada inesgotável fonte de novas substâncias antimicrobianas, devido à enorme biodiversidade existente no solo. Alexander Fleming descobriu o fenômeno da antibiose em Londres em 1927, mas a produção da penicilina só ocorreu nos laboratórios do USDA em Poeria-Illinois na década de 40. René Dubos isolou de uma amostra de solo *Bacillus brevis*, cuja cultura produzia uma substância com ação inibidora do crescimento de bactérias gram-positivas. Essa substância deu origem a dois antibióticos atuais: gramicidina e tirocidina. Outra descoberta de importância histórica foi feita pelo microbiologista do solo Selman Waksman e seus colaboradores, que encontraram a estreptomicina em *Streptomyces griseus* quando estudava a decomposição da matéria orgânica do solo. Por esse feito, Waksman ganhou o prêmio Nobel de medicina em 1952. Desde tais descobertas, inúmeros outros antibióticos, inseticidas e herbicidas microbianos têm sido descobertos, alcançando o mercado com vasta aplicação. Podem-se mencionar as avermectinas de *Streptomyces avermitilis*, a Pyrrolnitrina por *Pseudomonas fluorescens*, a cefalosporina por *Cephalosporium* sp. (atualmente *Acrenomyium*) e patulina por *Penicillium urticae*, este último para as plantas em concentrações de 20 a 75 mg L^{-1} e também inibitório para inúmeros fitopatógenos (bactérias e fungos) de solo. As fosfometrininas, empregadas na formulação de herbicidas, são também produzidas por *Streptomyces* sp. Fenazina e Oomicina A, produzidos por *P. fluorescens* 2-79, são agentes efetivos de controle biológico de fungos como *Gaeumanomyces graminis*.

Apesar da produção de antibióticos por microrganismos do solo e também de o fenômeno da antibiose ser amplamente documentado (ver capítulo 3), a significância ecológica e importância prática destas substâncias no solo são ainda difíceis de estabelecer. Isso ocorre em parte devido à dificuldade em detectar a ocorrência dos antibióticos no solo e relacioná-la com a atividade microbiana. Vários fatores contribuem para isso, como: a alta instabilidade dos antibióticos no solo, a intensa adsorção aos colóides e a baixa concentração em que se encontram no solo.

Apesar do forte envolvimento da Microbiologia do Solo com os antibióticos, desde seus primórdios, esses ainda não são aplicados efetivamente para controlar organismos e processos no ecossistema. Ironicamente, a indústria farmacêutica fatura bilhões de dólares com antibióticos originados de microrganismos desse *habitat*, que continuam representando uma fronteira ainda pouco explorada de novos metabólitos ativos de aplicações diversas.

Outro aspecto de grande interesse diz respeito a microrganismos produtores de toxinas empregadas no controle de pragas, como é o caso da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt). Trata-se de uma bactéria gram-positiva, bastonete, esporulante e amplamente distribuída no solo, que produz durante seu crescimento vegetativo, proteínas tóxicas aos insetos. Essas são proteínas cristalizadas, codificadas pelos genes *Cry* e, por isso, designadas proteínas *Cry*. Outros *Bacillus* produzem também várias toxinas, não sendo, portanto, exclusividade do Bt. Com base nas propriedades inseticidas

246 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

das das toxinas Cry, estas são agrupadas de acordo com sua especificidade tóxica conforme exemplos a seguir:

- a) tóxicas para Lepidópteros: *Cry1Aa*, *Cry1Ab*, *Cry1Ba*, *Cry9Aa*, *Cry2Ab* e *Cry2Ac*;
- b) tóxicas para Lepidópteros e Dípteros: *Cry1Ab*, *Cry1Ca* e *Cry2Aa*;
- c) tóxicas para Dípteros: *Cry4Ab*, *Cry10Aa* e *Cry11Aa*;
- d) tóxicas para Coleópteros: *Cry3Aa*, *Cry7Aa* e *Cry3Ca*;
- e) tóxicas para Nematóides: *Cry6Aa* e *Cry6Ba*;
- f) ação citolítica: *CytAa* e *Cyt2Aa*.

Pela propriedade de produzir proteínas inseticidas, Bt é usado como agente de controle biológico desde a década de 60, em formulações comerciais para o controle de pragas em várias culturas, principalmente contra os danos causados por Lepidópteros. Com o advento da tecnologia do DNA recombinante, tornou-se possível transferir os genes *Cry* para plantas, obtendo-se plantas transgênicas protegidas contra as pragas sensíveis à toxina transferida e expressa na planta. Várias culturas, como milho, algodão e canola, contendo genes para as proteínas tóxicas do Bt, são atualmente plantadas comercialmente em vários países, atingindo cerca de 20% da área global plantada com cultivares transgênicas, atualmente de 80 milhões de ha. Plantas de milho transgênicas com genes de Bt acumulam as proteínas tóxicas até em $9,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de folha, sendo que na planta toda a concentração média é mais baixa, cerca de $4,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de matéria fresca, e menor ainda ou ausente em certas partes, como nos grãos. A concentração dessas proteínas decresce na senescência da cultura, de modo que pequena quantidade é adicionada ao solo.

O uso de plantas transgênicas capazes de produzir substâncias orgânico-bioativas, apesar de praticado em vários países, é ainda assunto muito polêmico. No âmbito da Biologia do Solo é importante conhecer os efeitos de resíduos vegetais contendo tais toxinas sobre os organismos não alvos e também na cadeia trófica do solo. Elas têm baixa persistência, exceto quando adsorvem às argilas e substâncias húmicas no solo. Por serem específicas, seu potencial de risco para a biota do solo depende de qual gene foi inserido, que proteína está sendo produzida na planta e ainda qual a sua concentração nos restos vegetais. Também é importante conhecer se está presente nos exsudatos radiculares, pois poderia influenciar a população rizosférica ou interação com microrganismos simbióticos com as raízes. Estudo com milho Bt demonstrou que a proteína *Cry1Ab* em exsudatos ou na massa vegetal não exerceu efeito tóxico para biota rizosférica e para *Lumbricus terrestris* ou nematóides no solo (Saxena & Stotzky, 2001). Como o Bt é uma bactéria amplamente distribuída no solo, sua toxina é muito seletiva e de baixa persistência (< 25 dias), assim existe pouca possibilidade de esta exercer qualquer efeito deletério sobre a biota do solo. Em ensaios com colêmbolas (*Folsomia candida*) e com minhocas (*Eisenia foetida*) alimentadas com folhas de milho Bt (*Cry1Ab*), verificou-se que, em concentrações normalmente encontradas no solo, não se relatou nenhum efeito na sobrevivência ou sinais de toxicidade nesses organismos. O risco de esses genes serem transferidos para outros microrganismos tem sido também investigado. Embora exista alguma possibilidade de fluxo do gene do Bt para outras bactérias do solo, não há evidências de transferência espontânea dos genes *Cry*.

Apesar da grande polêmica sobre os plantios transgênicos, não existe comprovação de que o uso de variedades capazes de produzir as toxinas do Bt cause efeito negativo aos organismos e processos do solo. Isso, no entanto, não pode ser generalizado para transgênico algum e, para mais informações sobre esse assunto, consultar, por exemplo, Siqueira et al. (2004).

5.7. A mineralização da matéria orgânica

Substâncias de baixo peso molecular (monômeros), liberadas das macromoléculas pela ação das enzimas extracelulares durante a degradação, são absorvidas e metabolizadas pelas células microbianas que as convertem em formas inorgânicas, processo denominado *mineralização*. Esta é a última etapa da transformação biológica dos materiais orgânicos no solo a qual ocorre simultaneamente com a imobilização de nutrientes minerais para atender à demanda nutricional da microbiota decompositora (**Figura 5.20**). A mineralização resulta dos mecanismos catabólicos já discutidos no capítulo 4. Da dinâmica e intensidade relativa desses dois processos opostos, tem-se a “mineralização ou imobilização líquida”, de grande interesse para a Fertilidade do Solo e Nutrição Vegetal, pois substâncias orgânicas decomponíveis são convertidas a formas inorgânicas como CO_2 , NH_3 , NO_3^- , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} e SO_4^{2-} , as quais são absorvidas pelas plantas e pela microbiota do solo.

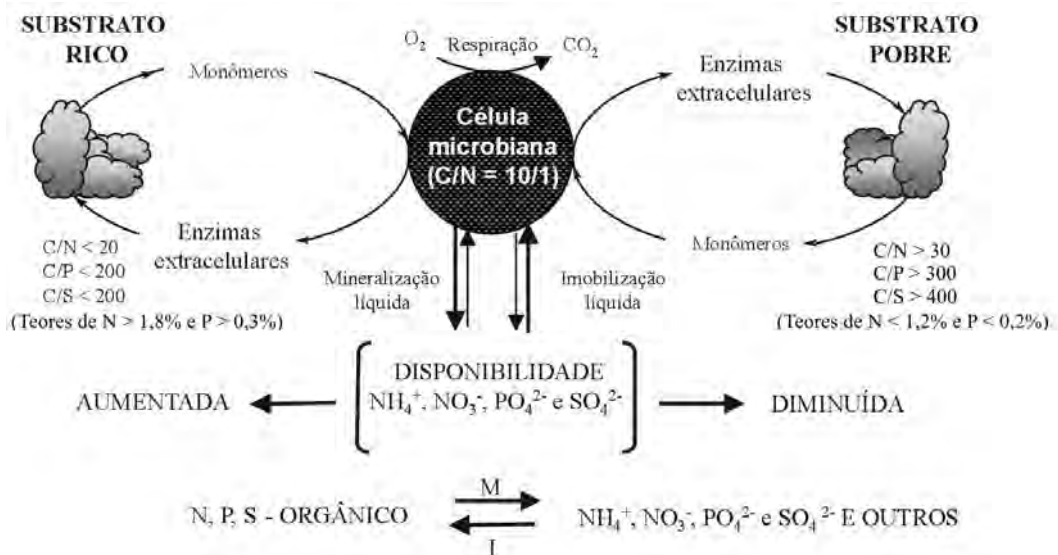


Figura 5.20. Mineralização e imobilização de nutrientes em função da qualidade do substrato em condições aeróbias e sua relação com a disponibilidade de nutrientes no solo.

Desse modo, os materiais orgânicos depositados, assim como parte das frações orgânicas pré-existentes do solo, representam importante reservatório de C, N, P, S e outros nutrientes que ocorrem em diferentes formas orgânicas (**Tabela 5.17**). A disponibilidade desses nutrientes para as plantas depende de sua natureza e forma química, o que determina o nível de atividade da população de organismos heterotróficos e o balanço líquido entre a mineralização e a imobilização (M/I) durante a oxidação completa dos materiais orgânicos no solo. Esse balanço é controlado pela qualidade do resíduo em termos da proporcionalidade da quantidade de C-oxidável e demais nutrientes como P e S, conforme **tabela 5.18**. Nesse aspecto, os materiais em mineralização podem ser classificados em ricos, pobres e intermediários, e isso determinará o sentido do processo, se libera ou imobiliza nutrientes do solo (Figura 5.20). Quando as relações C:N, C:P e C:S estiverem nas faixas 20-30, 200-300 e 200-400 respectivamente, a imobilização e a mineralização operam com a mesma intensidade, havendo equilíbrio entre esses processos e sem alteração imediata na disponibilidade dos nutrientes. Quando substratos ricos (colocados à esquerda da Figura 5.20) são mineralizados, ocorre aumento na disponibilidade de nutrientes, ao contrário daqueles classificados como pobres (à direita da Figura 5.20) que não possuem nutrientes em quantidade suficiente para atender à demanda da comunidade mineralizadora, causando imobilização de nutrientes do solo.

Tabela 5.17. Principais compostos orgânicos contendo C, N, P e S no solo.

Elemento	Principais formas orgânicas encontradas
Carbono	Hexoses, pentoses, açúcares aminados, ácido urônico, açúcares metilados e outros derivados e seus polímeros, lignina, uréia, álcoois, ácido graxo, purina, pirimidinas, lipídeos e xenobióticos. Constitui de 50 a 80% nas plantas e até 60% nos microrganismos.
Nitrogênio	Ácidos nucleicos (purina e pirimidina), uréia, aminados, proteínas, peptídeos, aminoácidos, quitina, fosfolipídeos, vitaminas e ácido teocóico. Menos de 2% nas plantas e mais de 15% nas bactérias.
Fósforo	<i>p</i> -inositol, ácido nucleico e fosfolipídeos.
Enxofre	Aminoácidos, vitaminas, ésteres, sulfóxidos, isotiocianatos, sulfatos éster e ligados ao carbono.

Tabela 5.18. Relações entre a qualidade inicial do substrato e razões unitárias de C, N, P e S que determinam a disponibilidade de nutrientes no solo (Stevenson, 1986).

Qualidade do substrato	Relação			Imobilização(I)/ Mineralização(M)	Disponibilidade dos nutrientes
	C:N	C:P	C:S		
Pobre	> 30	> 300	> 400	I > M	Diminuída
Intermediário	20-30	200-300	200-400	I = M	Não alterada
Rico	< 20	< 200	< 200	I < M	Aumentada

A qualidade do resíduo, portanto, influenciará a disponibilidade de nutrientes no solo através do controle da M/I, sendo a intensidade da mineralização relacionada à labilidade e composição das frações orgânicas. Por exemplo, grande parte do N orgânico do solo encontra-se nas frações menos lábeis da MOS, portanto, com baixa atividade no solo, contribuindo pouco para a mineralização e fornecimento de N para as plantas. Por isso, o teor de MOS, por si, não é um bom indicador da capacidade do solo em fornecer nutrientes às plantas. Mesmo assim, evidências indicam que solos com menos de 20 g kg⁻¹ de MOS (2%) têm capacidade muito limitada de fornecer N para as plantas, apresentando-se deficientes neste e em outros nutrientes. Para que qualquer inferência segura seja feita, há necessidade de conhecer a natureza química da matéria orgânica existente no solo.

No entanto, a decomposição/mineralização dos materiais orgânicos no solo não é estática: apresenta uma dinâmica temporal complexa como indicado na **figura 5.21**. Quando se adiciona um resíduo orgânico ao solo em condições de equilíbrio, a população microbiana é estimulada em função da adição de C-oxidável e a demanda de nutrientes pela microbiota decompositora aumenta. A respiração (taxa de liberação de CO₂) do solo também aumenta rapidamente e os nutrientes minerais, como o NO₃⁻, são absorvidos em grande quantidade para atender às exigências dos microrganismos, tornando-se imobilizados na nova biomassa. Dependendo da relação C:N do material adicionado, pode ocorrer o esgotamento do nitrogênio no caso de relação C:N alta (> 30), ou liberação do elemento mineralizado, se o resíduo tiver relação C:N baixa (< 20). Tais relações são mais amplas para P e S porque os microrganismos exigem pequenas quantidades desses nutrientes em relação a C. Esses limites de relação são muito empíricos, mas ainda não se conhecem procedimentos mais adequados e práticos para avaliar isso. Além da relação entre C e demais nutrientes, sua concentração no material pode servir de orientação quanto aos efeitos na fertilidade do solo. Há indicações de que resíduos orgânicos contendo menos que 1,2% de N e 0,2% de P promoverão imobilização líquida durante a sua decomposição. À medida que C é liberado, na forma de CO₂, a concentração relativa de N no material remanescente aumenta, resultando em redução da sua relação C:N (Figura 5.21). À medida que o resíduo é mineralizado, e sua relação C:N cai para 20 – 30, tem-se uma equivalência entre I e M, sendo M favorecida quando a relação C:N se tornar menor que 20. A partir desse período, o material encontra-se em estado bem avançado de humificação, a atividade microbiana cai (taxa de liberação de CO₂) e parte dos nutrientes minerais contidos no material originalmente depositado, já convertido em biomassa, torna-se disponível, elevando-se o fornecimento de nutrientes no solo.

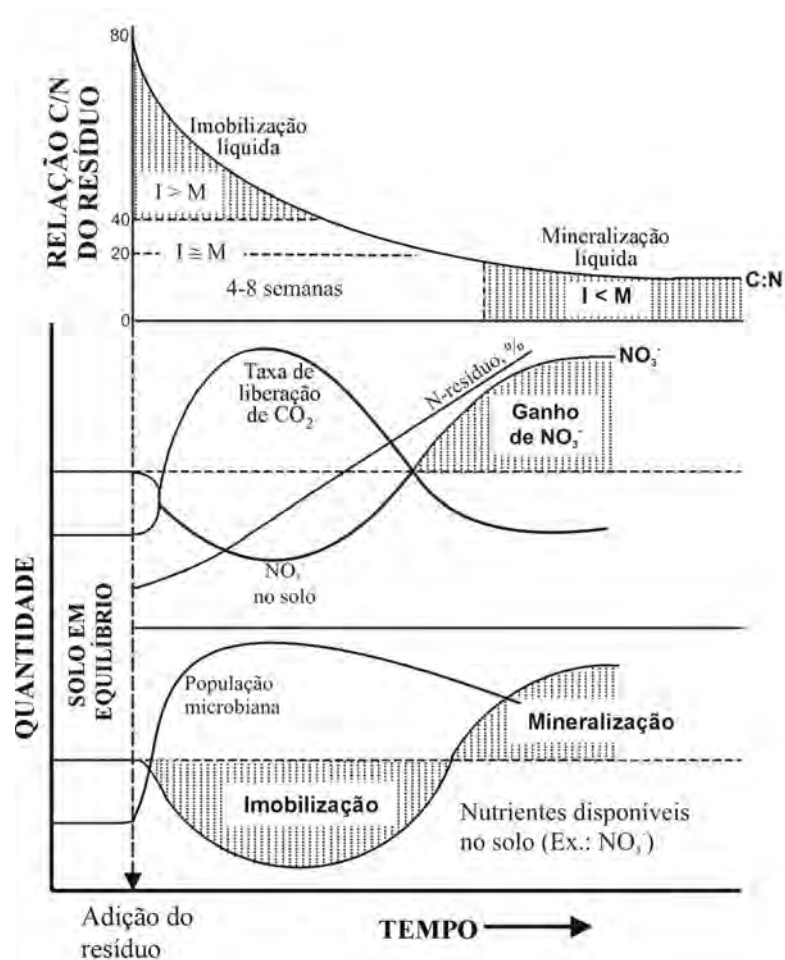


Figura 5.21. Resposta da microbiota e dinâmica de processos da mineralização de resíduos orgânicos em relação à disponibilidade de nutrientes no solo. (Modificado de Stevenson, 1986.)

A decomposição e a mineralização da MOS sofrem grande influência das intervenções feitas no solo, que alteram a comunidade microbiana e sua atividade, com reflexos em curto prazo na reciclagem da MOS e dos nutrientes. No início do século passado, Lohnis, ao estudar os efeitos e a decomposição de adubos verde de leguminosas no solo, verificou que esses intensificavam a mineralização do N do húmus. Esse fenômeno ficou esquecido por muito tempo, mas, lentamente, outros estudos mostraram que a mineralização extra de C e N do solo, após a adição de resíduos orgânicos, de fato ocorria de modo consistente e se devia a mecanismos interativos múltiplos. Bingemann et al. (1953) introduziram o termo “efeito priming” para descrever o fenômeno que explica a decomposição extra da MOS após a adição ao solo de substâncias orgânicas decomponíveis. O “efeito priming”, embora seja mais conhecido

pela aceleração da mineralização natural provocada por um gatilho (ex.: matéria orgânica fresca) que se encontra limitando a atividade da biomassa, pode também ter efeito negativo temporário devido à imobilização do N. Kuzyakov et al. (2000) definem “efeito priming” como: mudanças intensas e de curta duração na reciclagem da MOS, causadas por intervenções moderadas no solo. Algumas relações comparativas da dinâmica dos mecanismos sequenciados envolvidos no “efeito priming” e mudanças na liberação de nutrientes encontram-se na **figura 5.22**, sendo amplamente discutidos em Kuzyakov et al. (2000). Tal mudança é caracterizada pelo seguinte:

- a) acontece imediatamente após adição de substâncias orgânicas metabolizáveis ao solo;
- b) é mais intenso em solos ricos em C e N que naqueles pobres nesses elementos;
- c) nunca se observou em condições de solo estéril. Trata-se, portanto, de uma resposta biológica;
- d) a intensidade do efeito aumenta com a quantidade de material orgânico adicionado;
- e) em geral, a adição de amônia tem efeito mais intenso que a de NO_3^- .

A adição de fontes de C e N como resíduos orgânicos, fertilizantes minerais, presença de plantas (rizodeposição), sais solúveis, tratamentos mecânicos e ciclos de umedecimento e secagem do solo aumentam rapidamente a atividade microbiana, acelerando a mineralização da MOS existente no solo e liberando os nutrientes. Do mesmo modo, esses fatores podem ter efeitos negativos na liberação de nutrientes, especialmente do N, caracterizando um “efeito priming” negativo devido à maior imobilização

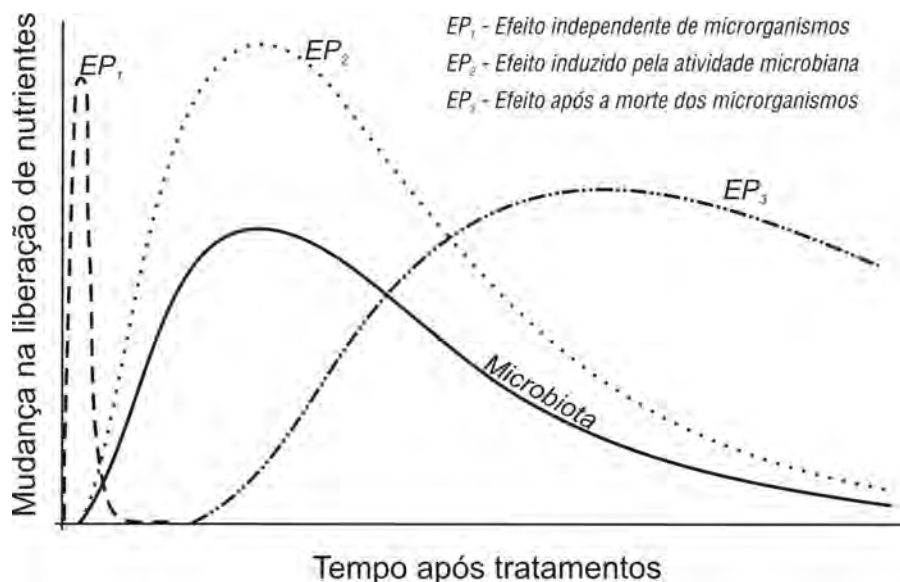


Figura 5.22. Relação entre a dinâmica do “efeito priming” e dos microrganismos (atividade ou quantidade) em resposta a uma interferência no solo. (Kuzyakov et al., 2000.)

do N na microbiomassa. É de interesse especial tais interações e efeitos na rizosfera onde há grande liberação de substratos prontamente assimiláveis e ricos em C, os quais desencadeiam uma mineralização adicional do N da MOS. Os exsudatos radiculares podem provocar decomposição extra de 60 kg ha⁻¹ dia⁻¹ de C e de 6 kg ha⁻¹ dia⁻¹ de N. Portanto, as plantas beneficiam-se da rizodeposição, tendo absorção extra de N e de outros nutrientes mineralizados por ação induzida por ela própria na rizosfera. Esse é um ótimo exemplo prático do “efeito priming”.

A questão da qualidade da matéria orgânica e sua relação com a liberação de nutrientes são de grande importância para o manejo da MOS (Swift, 1999). Estima-se que, em geral, de 1 a 3% da MOS do solo são mineralizados pela biomassa a cada ano e valores freqüentemente relatados para taxa e quantidades mineralizadas de N, P e S encontram-se na **tabela 5.19**. Em um solo com suprimento adequado de material orgânico de boa qualidade e condições ambientais que favorecem a mineralização, pode ocorrer a liberação de grande quantidade de nutrientes. Como a absorção de N pelas plantas é estimada de 0,5 a 3 kg ha⁻¹ dia⁻¹, verifica-se que a reserva de N e seu fluxo na biomassa podem atender a demanda da planta, se resíduos de boa qualidade forem fornecidos e a mineralização do N ocorrer plenamente. Isso é confirmado quando se considera a quantidade total de nutrientes extraída pelas culturas e sua quantidade na microbiomassa do solo. Em solo de cerrado com baixo teor de matéria orgânica, o fluxo de N e P em monocultivo com arroz foi estimado em 86 e 24 kg ha⁻¹ respectivamente, enquanto em sistema de rotação arroz-pastagem-leguminosa, tais valores subiram para 165 e 32 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (CIAT, documento nº 148, 1994). Esses resultados indicam que a monocultura do arroz não é sustentável nesse ecossistema e que a microbiomassa, embora proporcionalmente pequena em relação à MOS, apresenta elevada capacidade de fornecer nutrientes às plantas.

Tabela 5.19. Faixa de valores para taxa de mineralização e estimativas da quantidade de N, P e S mineralizada por hectare.

Nutriente	Taxa de mineralização	Quantidade mineralizada	
	µg g ⁻¹ dia ⁻¹	kg ha ⁻¹ dia ⁻¹	kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ *
Nitrogênio	0,03 - 3,00	0,6 - 6	100 - 1.000
Fósforo	0,02 - 0,19	0,4 - 3,6	73 - 648
Enxofre	0,09 - 0,12	1,8 - 2,4	320 - 430

* Estimado considerando a taxa de mineralização constante durante seis meses por ano.

Avaliar a mineralização do N no solo é bastante difícil devido a sua complexidade e dinâmica no sistema. Isso tem sido conseguido por diversas maneiras, como o emprego de modelagem exemplificado pela equação a seguir, que estima a quantidade de N potencialmente mineralizável (N_m).

$$N_m = N_0 (1 - \exp^{-kt})$$

em que N_0 = potencial de mineralização no tempo 0; t = tempo de incubação em semanas, e k = taxa da constante de mineralização em semanas, sendo N_0 e k determinados por incubação por períodos de

12 a 32 semanas. Valores típicos de N potencialmente mineralizável variam de 10 a 383 (média de 130) mg N kg⁻¹ de solo, o que corresponde a mais de 200 kg N ha⁻¹. A mineralização do N-orgânico do solo é um tópico de grande interesse e também abordado no capítulo 7. Para informações adicionais, consultar Stevenson (1986) e Santos & Camargo (1999).

A imobilização de nutrientes do solo causada pela adição de resíduos orgânicos é um processo constante e intenso para o caso do N, porém sem importância para os demais nutrientes. Os microrganismos do solo têm demanda muito elevada em N. Células bacterianas, por exemplo, contêm de 5 a 10% de N, o que representa uma demanda muitas vezes superior a 20 kg N ha⁻¹. Considerando a microbiota do solo como um todo, admitindo que 2/3 do C do material é liberado como CO₂ e que a relação C:N média da microbiomassa é de 10:1, esta absorve carbono e nitrogênio na proporção 30:1. A relação C:N, que implicará mineralização ou imobilização do N, também conhecida por demanda de N, pode ser, pelo menos teoricamente, determinada da seguinte maneira:

a) estabelecer as considerações ou premissas básicas do processo, como:

a₁) fungos representam, em média, cerca de 2/3 da biomassa microbiana; tem relação C:N próxima de 10 e convertem 44% do C prontamente decomponível a tecidos microbianos, o que significa coeficiente de produção $y = 0,44$;

a₂) bactérias representam, em média, 1/3 restante da biomassa; têm relação C:N média de 4 e convertem 32% do C em biomassa, então $y = 0,32$;

b) calcular a relação C:N crítica para atender às necessidades de N dos decompositores:

b₁) calcular os coeficientes médios da população microbiana e relação C:N da biomassa:

$$Y = (2/3) \times 0,44 + (1/3) \times 0,32 = 0,40$$

$$C:N = (2/3) \times 10 + (1/3) \times 4 = 8$$

b₂) calcular quanto de C-biomassa será produzido durante a mineralização:

$$100 \text{ g substrato} = 60 \text{ g CO}_2 + 40 \text{ g C-biomassa}$$

b₃) calcular quanto de N-biomassa será produzido:

$$40 \text{ g C-biomassa} = 5 \text{ g de N-biomassa}$$

$$C:N \text{ de } 8$$

b₄) calcular a relação C:N crítica do substrato, abaixo da qual haverá mineralização líquida:

$$\text{relação C:N do substrato} = \frac{100 \text{ g C}}{5 \text{ g N}} = 20$$

Difícilmente os substratos adicionados ao solo têm relação C:N tão estreita assim (20:1) e, por isso, há um déficit acentuado de N que pode ser estimado através do “fator N”, que expressa o grau em que o

254 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

resíduo é deficiente no nutriente para a decomposição. O fator N é definido como o “número de unidades de N inorgânico necessário para a mineralização de 100 unidades de material orgânico, sem que ocorra imobilização líquida do N do solo”. Esse fator pode ser calculado para qualquer resíduo em que se conheça a sua composição. Veja-se o exemplo a seguir: cada 100 kg de palha contêm 40 kg de carbono e 0,5 kg de N, e que 50% do C da palha sejam assimilados pelos microrganismos, os quais têm relação C:N aproximadamente 8:1, tem-se que:

$$40 \times 0,50 = 20 \text{ kg de C assimilados na biomassa, para a qual a demanda de N é } 20/8 = 2,5 \text{ kg.}$$

Como a palha fornece 0,5 kg de N, haverá um déficit de 2,0 kg de N para cada 100 kg de palha, ou seja, o fator N é 2,0. Essa quantidade de N deve ser adicionada para evitar a imobilização desse nutriente no solo pelos decompositores e a competição com as raízes. A competição entre os processos do solo e as plantas por N, mesmo que temporária, pode resultar em prejuízos à cultura implantada naquele solo. Um esboço que resume os processos e um balanço da mineralização em massa de 10 Mg de um resíduo orgânico durante o primeiro ano de aplicação no solo é apresentado na **figura 5.23**. Para esse exemplo, tem-se que, para cada 10 Mg de resíduo, haverá no primeiro ano uma imobilização de N mineral de 120 kg. Caso essa quantidade não seja aplicada e o solo não seja capaz de fornecê-la de sua reserva, a decomposição do resíduo será muito lenta pela falta de N. Como a maioria dos restos vegetais que atinge o solo possui relação C:N alta, como os resíduos de gramíneas, estes promovem déficit de N que variam de 10 a 20 kg de N Mg⁻¹ de resíduo. Para evitar problemas de deficiência de N nas culturas, deve-se proceder da seguinte maneira:

- a) incorporar os resíduos no mínimo 60 dias antes do plantio, para que quando a cultura necessitar de grandes quantidades de N, a fase de imobilização mais intensa já tenha ocorrido (Figura 5.21);
- b) adicionar fertilizantes nitrogenados juntamente com os resíduos em solos destinados ao plantio imediato. O N será utilizado para a decomposição dos resíduos e, posteriormente, um mês ou mais depois, liberado para cultura, quando a decomposição atingir estágio mais avançado. A quantidade a ser adicionada pode ser calculada em função da composição do resíduo;
- c) manter os restos culturais na superfície do solo, como ocorre no sistema plantio direto. Isso reduz sua decomposição até em 50%, representando uma estratégia importante para o sucesso desse sistema nos trópicos, onde a matéria orgânica oxida-se rapidamente no solo. Em países de clima frio, recomenda-se o fogo, mas nas condições tropicais, onde a taxa de decomposição dos resíduos é elevada e os solos são pobres em matéria orgânica, a queima dos restos culturais não deve ser praticada. Há também outras questões ambientais que desencorajam ou proíbem a queima da resteva, mas há situações em que isso é preconizado como controle de pragas e doenças;
- d) a alternativa é fazer a compostagem do material antes de sua aplicação no solo. Embora muitas vezes seja difícil de ser praticada em grandes áreas, é a alternativa tecnicamente mais indicada quando se buscam sistemas agrícolas sustentáveis.

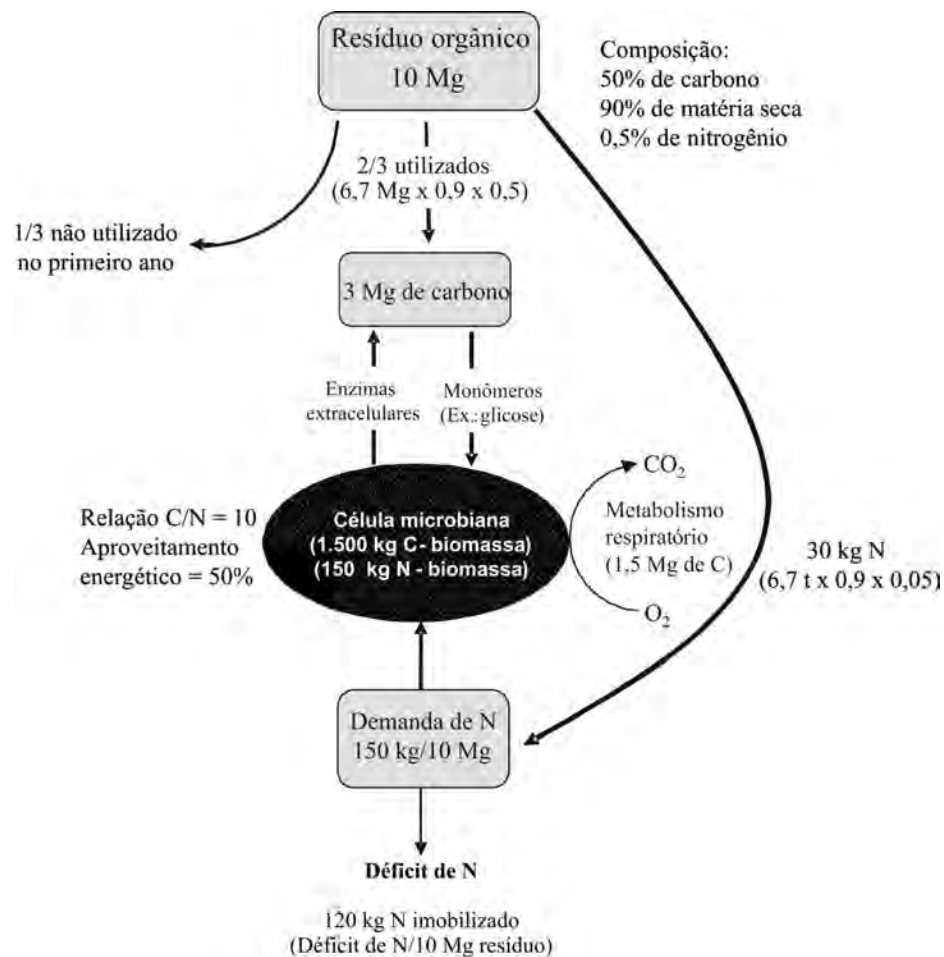


Figura 5.23. Representação e balanço da decomposição de 10 Mg de um resíduo orgânico no solo mostrando a imobilização e o cálculo do déficit de N.

Uma alternativa para a reciclagem de materiais orgânicos é a *compostagem*, que consiste na decomposição aeróbia e termofílica de resíduos orgânicos por populações microbianas quimiorganotróficas. O processo é caracterizado por fases de estabilização e maturação que vão de poucos dias a várias semanas, dependendo de vários fatores ambientais e relação C:N, como apresentados, resumidamente, a seguir:

- a) microrganismos – são responsáveis pelas transformações da matéria orgânica em húmus. Os mesófilos e termófilos são os mais importantes nestas transformações devido às altas temperaturas das medas;
- b) umidade do solo – é ótima em torno de 50%, manter entre 40 e 60% de umidade das pilhas;

256 Capítulo 5 · Matéria Orgânica do Solo

- c) aeração – promover a oxidação da massa em compostagem e acelerar os processos de transformação;
- d) temperatura – apresenta forte interação com os fatores acima. No início, passa de mesófila para termófila, mas volta à temperatura ambiente ao término da compostagem. Compostagem mesófila: temperatura < 45°C e termófila: acima desse valor;
- e) relação C:N – a relação ótima para o início da compostagem situa-se entre 25:1 e 35:1. A relação decresce com o tempo de compostagem e estabiliza quando atinge de 8 a 12:1.

O material obtido pela compostagem denomina-se “composto” que possui cor escura, é rico em húmus e contém em torno de 50 a 70% de matéria orgânica. Durante a compostagem, ocorre a decomposição, com perda de carbono, hidrogênio e oxigênio; como o N não é perdido, a relação C:N torna-se mais baixa, reduzindo-se a imobilização quando o resíduo (composto) for aplicado ao solo. A relação C:N é um índice empregado para avaliar o estágio de maturação dos materiais em compostagem. Materiais compostados com relação C:N > 21 são considerados imaturos, entre 18 e 21, bioestabilizados e C:N < 18, humificados, o que ocorre geralmente a partir da 15ª semana de compostagem. À medida que a relação C:N diminui, a demanda química de oxigênio (DQO) do resíduo também diminui, reduzindo o efeito poluidor do material orgânico, caso este atinja corpos d’água.

A compostagem é de grande importância, uma vez que reduz a formação de gases com mau cheiro, diminui o volume dos resíduos, inativa vários patógenos e facilita o uso dos rejeitos orgânicos. Para isso, os materiais orgânicos são misturados em pilhas denominadas “medas” e deixados decompor por 60 a 90 dias. Para completa abordagem deste tópico, consultar Kiehl (1998). Alternativamente, materiais orgânicos podem ser submetidos à biodigestão anaeróbia ou sistemas mistos (aeróbio/anaeróbio) com produção de energia (biogás) e resíduos orgânicos na forma de lodo. Através desse processo, há grandes perdas de carbono na forma de CO₂ e CH₄ e produção de biomassa microbiana, constituindo o chamado biossólido. O uso de “composto” já é bastante difundido na agricultura e mais recentemente, surgiram produtos comerciais de origem diversas denominados “humatos”, alguns contendo outros fatores promotores do crescimento vegetal. Os últimos são conhecidos como bioestimulantes orgânicos são difundidos em várias regiões do mundo para usos diversos na agricultura, porém seus resultados nem sempre são confirmados.

5.8. Matéria orgânica do solo e produtividade

Por exercer efeitos diretos e indiretos sobre as características do solo (físicas, químicas e biológicas) e sobre as plantas, a MOS é crucial para a produtividade dos solos agrícolas, especialmente nos trópicos, constituindo-se no alicerce da sustentabilidade agrícola. A MOS desempenha papel fundamental nas funções do solo e, por isso, é considerada a principal característica indicadora da sua qualidade por apresentar forte inter-relação com quase todas as características físicas, químicas e biológicas do solo (**Figura 5.24**), exercendo forte influência na sua capacidade produtiva e impactando, de modo muito intenso, a nutrição das plantas e a produção agrícola. Sem dúvida, a MOS é um componente crítico da



Figura 5.24. A matéria orgânica como moduladora das propriedades e funções do solo.

produtividade do solo, que muda constantemente em função do uso desse recurso natural. Entretanto, a relação entre o teor de MOS e a produtividade nem sempre é direta e linear, mas na maioria das vezes, pode-se afirmar que quanto maior o teor de MOS, melhor é o solo.

Um dos grandes desafios atuais é estabelecer níveis críticos de carbono orgânico do solo para garantir a produtividade adequada dos agrossistemas. Em estudos realizados em Michigan (EUA), verificou-se que o potencial de produção do milho se relaciona de modo direto com o teor de C do solo, de modo que, para cada 1% de aumento no C do solo, o potencial de produção aumenta 20% ou mais (Lucas et al., 1977). Doran et al. (1996) apresentam resultados de estudos no Canadá nos quais se relacionaram os teores de C do solo com a produção (**Figura 5.25a**), verificando que em solos com menos de 2% de C orgânico (COS), a produtividade é diminuída linearmente, enquanto para aqueles com níveis de C maior que 2%, a produção foi independente dessa variável. Os autores concluíram que 2% de COS são suficientes para garantir boa produtividade naquelas condições. Já em solo de região tropical úmida (**Figura 5.25b**), observa-se a mesma relação entre o teor de COS na faixa de 0,5 a 2% e a produtividade do milho. Isso, entretanto, não pode ser generalizado, pois há indicações que o mesmo nível de MOS não é suficiente em outras situações de solo ou cultivo. Também a idéia de “quanto mais COS, melhor” não é sempre verdadeira. Em algumas regiões centrais dos EUA, solos com mais de 5% de COS recebem escores de qualidade tão baixos quanto aqueles com menos de 1,2%, indicando que teores muito elevados de COS não são desejáveis naquelas condições. Algumas das razões para isso são mencionadas ainda neste tópico. Deve-se entender que a produtividade do solo é uma função da sua fertilidade natural em conjunto com as propriedades físicas e biológicas, clima, manejo do agrossistema e adições de fertilizantes, resíduos orgânicos, etc. Embora os fertilizantes

sejam a principal fonte de nutrientes, os resíduos das culturas podem contê-los em grande quantidade, cerca de 36%, 24% e 15% do estoque de K, N e P dos agrossistemas, respectivamente, dos quais parte será reciclada via decomposição da MOS. Como já foi visto, a decomposição é rápida e intensa nos agrossistemas, resultando em perdas da MOS original de 40 a 60% após certo período de cultivo, sendo isso muito intenso nos trópicos. A perda da MOS causa o esgotamento das reservas do solo, sendo um grande desafio manter seus níveis adequados no solo. Há estudos mostrando que os limites máximos de produtividade nos trópicos sejam determinados pelos níveis de C no solo. Em geral, baixas produtividades estão relacionadas a grandes perdas de MOS, enquanto altas produtividades sempre estão associadas a ganhos de MOS, refletindo um manejo correto e sustentável do solo, como já discutido neste capítulo. A relação entre o esgotamento da MOS com a qualidade do solo e outras conseqüências socioeconômicas serão abordadas no capítulo 7.

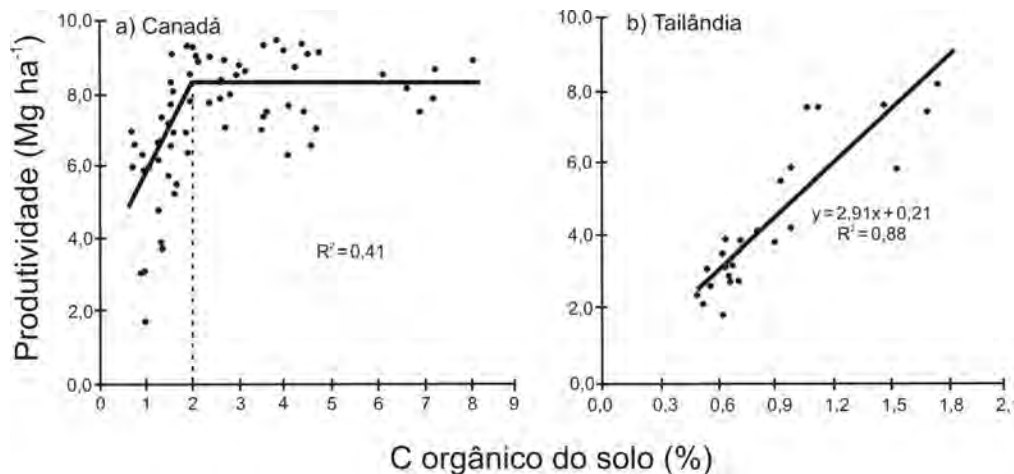


Figura 5.25. Relação entre o teor de C orgânico no solo e a produtividade de grãos no Canadá (a) e na Tailândia (b). (Modificado de Doran et al., 1996, e Lal, 2000.)

Evidências adicionais da importância prática da MOS são encontradas nos sistemas de recomendação da adubação nitrogenada. A quantidade de N aplicada depende do aporte de resíduos orgânicos ao solo (cultura anterior) e dos teores da MOS. Por exemplo, a dose de N indicada para o milho em plantio direto após trigo e aveia-preta é de 100 e menor que 40 kg ha⁻¹ de N para solos com $\leq 2,5$ e $\geq 5,5\%$ de matéria orgânica respectivamente, enquanto, para o milho após centeio e aveia-preta, a dose de N é de 50 e menor que 10 kg ha⁻¹ de N para os mesmos níveis mencionados de MOS (Wietholter, 2002). A natureza do resíduo, a quantidade produzida e a expectativa da produtividade das culturas são também fatores importantes na definição das doses de N. Tais doses são máximas, podendo atingir 200 kg ha⁻¹ de N para situações de alta produção de resíduos de gramíneas, baixos teores de MOS (menos que 2,5%) e alta produtividade esperada.

Embora os efeitos da MOS sejam, na maioria, benéficos, efeitos maléficos podem também ocorrer. No âmbito da Microbiologia, a adição de material orgânico estimula os microrganismos heterotróficos, que possuem capacidade ilimitada para transformar esses materiais, tendo efeitos e conseqüências diversas na reciclagem de nutrientes, interações microbianas e liberação de substâncias orgânicas bioativas ou tóxicas que influenciam o sistema solo-planta-organismos (**Figura 5.26**). Por razões já bem discutidas neste livro, a adição de material orgânico ao solo exerce grande impacto na microbiota do solo, podendo ter conseqüências variadas no crescimento das plantas e impactos ambientais. Em certas situações, pode ocorrer a liberação excessiva de nutrientes, que podem causar poluição ambiental, afetar a qualidade dos alimentos e inibir processos biológicos importantes, como a nodulação e a formação de micorrizas. Esse último pode se dar durante a formação de mudas, com sérias conseqüências futuras para as plantas, quando forem levadas para o campo. Outro aspecto importante da decomposição de materiais orgânicos é a sincronização da mineralização com a absorção pela cultura. Isso evita perdas ou excessos de nutrientes no solo e maximiza o uso dos nutrientes.

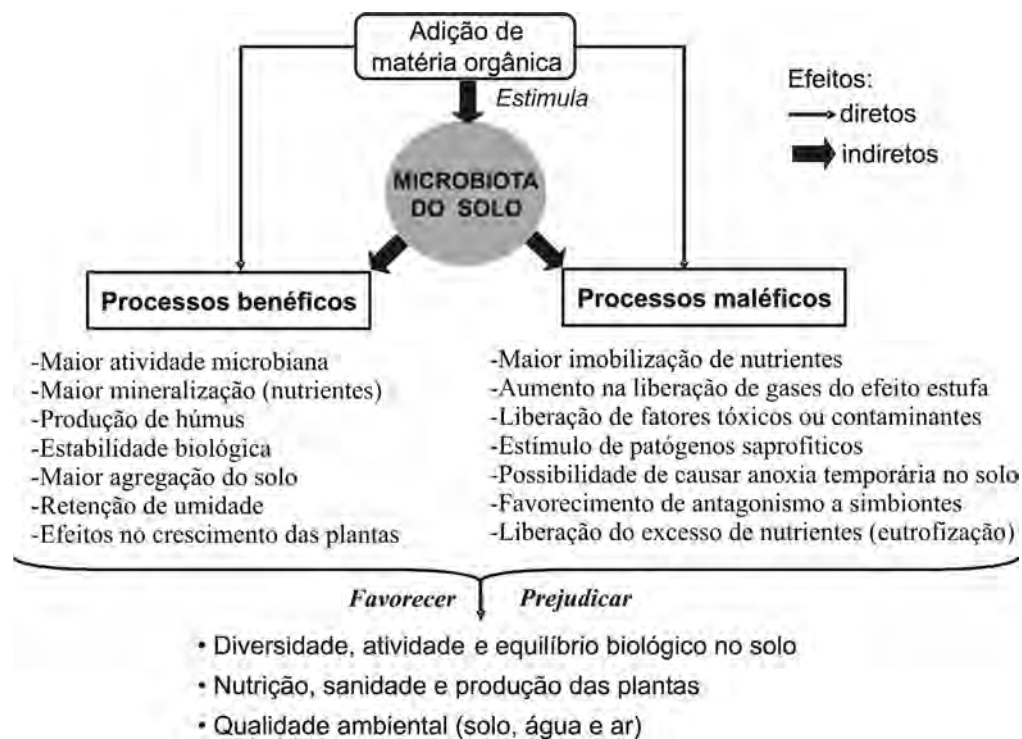


Figura 5.26. Possíveis efeitos diretos e indiretos da adição de matéria orgânica ao solo: a MOS atua diretamente sobre várias características e, indiretamente, via microbiota do solo.

A inoculação de resíduos de restos de cereais, com cultura de microrganismos heterotróficos decompositores de celulose, fixadores de N_2 , produtores de polissacarídeos com ação agregante e agentes de controle biológico têm sido apontados como tecnologias muito promissoras, mas seu uso, em larga escala está ainda condicionado a avanços científicos e tecnológicos. Há casos de empregos de tecnologias baseadas nesses organismos, mas não são ainda convincentes.

Os sistemas de produção agrícola devem ser feitos de modo a aproveitar todos os restos orgânicos disponíveis na propriedade, porém com as precauções necessárias para que a decomposição não traga prejuízos para a qualidade do solo e para as culturas. Com exceção dos resíduos vegetais não processados, materiais orgânicos, como lodo de esgoto ou composto de lixo urbano, podem conter quantidades elevadas de elementos indesejáveis, como metais pesados e substâncias orgânicas tóxicas, o que exige cuidados especiais (itens 6.5, 7.2.2 e 7.6). Portanto, como regra geral, manter o teor adequado de matéria orgânica no solo é essencial para garantir sua boa qualidade, mas deve-se tomar cuidado com a idéia de que “tudo que é orgânico é bom”, pois isso nem sempre é verdadeiro. Os sistemas agrícolas devem ser manejados de modo a manter ao mínimo as perdas sucessivas de carbono do solo, pois isso, além de levá-lo à degradação, causa outros prejuízos ao ecossistema.

BIBLIOGRAFIA

CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. 360p.

COLEMAN, D.C.; OADES, J.M.; UEHARA, G. **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Hawaii: University of Hawaii Press, 1989. 247p.

FOLLET, R.F.; COLE, C.V.; POWER, J.F. (Eds) **Soil fertility and organic matter as critical components of production systems**. Madison: ASA, 1987. 166p.

METTING JR., F.B. **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1992. 648p.

MITCHELL, M.J.; NAKAS, J.P. **Microfloral and faunal Interactions in natural and agro-ecosystems: developments in biogeochemistry**. Netherlands: Nijhoff, M and Dr. Junk, W. Publishers, 1986. 505p.

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

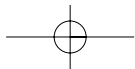
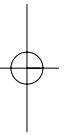
SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. 491p.

SIQUEIRA, J.O.; Trannin, I. C. B.; Ramalho, M. A. P.; Fontes, E. M. G. Interferências no ecossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 21, n. 1, p. 11-81, 2004.

SIQUEIRA, J.O.; NAIR, M.G.; HÁMMERSCHMIDT, R.; SAFIR, G.R. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.10, n.1, p.63-121, 1991.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Microorganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142p.

WOOMER, P.L.; SWIFT, M.J. **The biological management of tropical soil fertility**. New York: John W. & Sons Publishers, 1994. 243p.



Capítulo 6

Xenobióticos no Solo

6.1. Introdução

Através de procedimentos programados, como a aplicação de defensivos, controle de zoonoses, “landfarming”, aterros sanitários, deposição de rejeitos industriais e urbanos, descarte de embalagens e uso agrícola de biossólidos, além de deposições acidentais diversas e contaminação proveniente da atmosfera, o solo recebe grandes quantidades de uma variedade imensa de compostos químicos sintéticos, não existentes naturalmente no ambiente, chamados *xenobióticos* (originado do grego, *xeno* significa estranho, e *biótico*, vida). Essas substâncias antropogênicas têm aplicações domésticas e industriais diversas, sendo usadas como detergentes, lubrificantes, fibras, plásticos, pigmentos, biocidas e outros, resultando em benefícios sociais e econômicos. Por isso, têm sua produção e uso crescentes, atingindo ampla distribuição e concentração na biosfera. No entanto, tal como ocorreu com a “Revolução Verde” da agricultura, a chamada Fase Áurea da Revolução Industrial do desenvolvimento tecnológico mundial também mostra sua outra face, que é a contaminação e a poluição química do ambiente, o que tem sérias conseqüências ecológicas e à saúde pública. Essa situação terá que ser revertida, o que representa um grande desafio a ser enfrentado pela Ciência e Tecnologia neste início de século.

A produção mundial de químicos orgânicos sintéticos (xenobióticos) atinge um total de 200 milhões de toneladas anuais. Na década de 90, apenas nos Estados Unidos existiam mais de 70.000 produtos químicos comerciais, sendo introduzidos 3.000 novos a cada ano (Catallo & Portier, 1992). De acordo com a Agência de Proteção Ambiental daquele país (EPA), 65 classes dessas substâncias são consideradas perigosas devido a seus efeitos tóxicos, carcinogênicos e teratogênicos. Estimativas indicam que apenas naquele país existam cerca de 300.000 locais de solo e água contaminados perigosamente com xenobióticos, o que demandaria, por ano, algo em torno de US\$ 9 bilhões de dólares para a remediação dessas áreas (Scientific American, 1999). Grande parte dessas contaminações ocorre pelos pesticidas agrícolas que ocupam posição de destaque no contexto agrônomo, ambiental e de segurança alimentar.

Os pesticidas agrícolas, também conhecidos como *agrotóxicos*, são defensivos agrícolas com ação tóxica (cida), tendo como princípio ativo, compostos químicos xenobióticos em sua grande maioria, desenvolvidos e fabricados para controlar ou erradicar, de maneira geralmente específica, as pestes das plantas, do homem e dos animais. Essas substâncias começaram a ser usadas em larga

escala no início da década de 40, tornando-se importantes fatores da produção agrícola mundial. Milhares de compostos orgânicos já foram registrados como pesticidas, os quais variam de moléculas simples como metil-halogenados (CH_3Br - brometo de metila), a moléculas complexas como o aldrin, ambos atualmente banidos do uso agrícola. Os principais pesticidas são xenobióticos pertencentes ao grupo dos organofosforados, carbamatos, feniluréias e outros. Exemplos da estrutura molecular de alguns desses compostos encontram-se na **figura 6.1**. Seus benefícios para aumentar e estabilizar a produção são evidentes, pois as pragas e doenças são responsáveis por perdas de 30 a 40% na agricultura podendo atingir perda total da produção se o controle eficaz não for praticado em tempo hábil. Por isso, cerca de 3,7 milhões de toneladas de pesticidas são consumidas anualmente, quantidade projetada para 10 milhões de toneladas ano⁻¹ em 2050. No entanto, devido aos efeitos adversos ao meio ambiente e à segurança dos alimentos, esses produtos despertam cada vez mais preocupação e exigem mais cuidados.

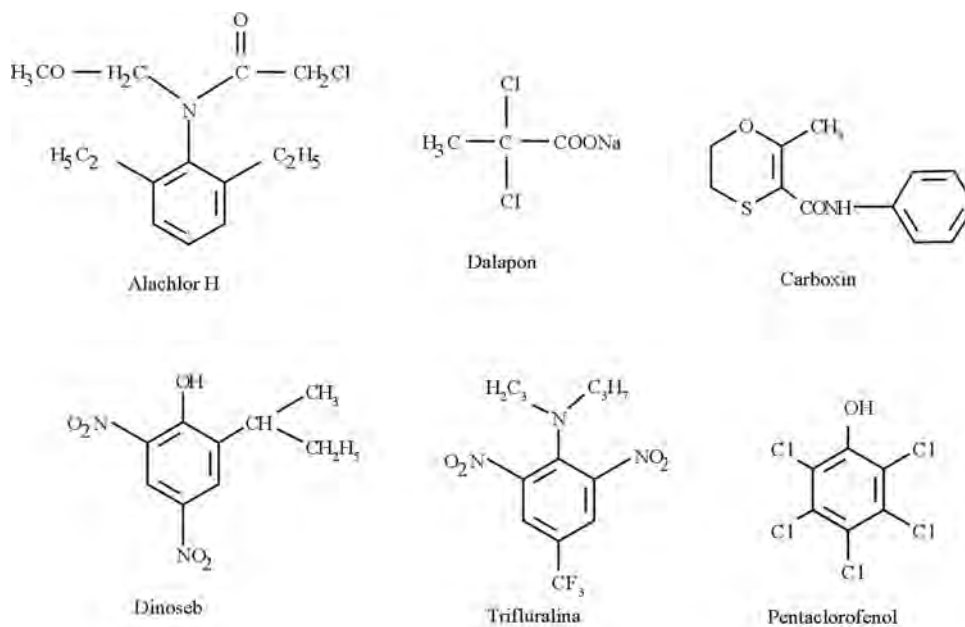


Figura 6.1. Estrutura química de representantes de pesticidas.

Os negócios com pesticidas movimentam, por ano no mercado mundial, valores superiores a 32 bilhões de dólares, sendo os EUA os maiores produtores, consumidores e exportadores, onde se comercializam quase 600 produtos diferentes. No Brasil, que é o quinto maior consumidor de pesticidas do mundo, 278 ingredientes ativos estão registrados para uso, crescendo o consumo de modo acelerado (Monteiro, 1997). Segundo dados revelados pelo Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos, as vendas desses produtos passaram de 1 bilhão de dólares no início da década para cerca de 2,5 bilhões de

dólares, atualmente, com destaque para a cultura da soja, cujo consumo atingiu cerca de 35% dessa cifra. Tanto no Brasil quanto no mundo, os herbicidas representam a maior proporção de pesticidas consumidos, atingindo cerca de 85% do total usado em alguns países desenvolvidos.

As dez principais culturas e usos de pesticidas em ordem decrescente de valor econômico são, de acordo com Lavorenti et al. (2003), as seguintes:

- a) herbicidas – representam cerca de 60% das vendas e são mais empregados em soja, milho, cana-de-açúcar, arroz irrigado, café, algodão, feijão, pastagens, citros e trigo;
- b) inseticidas – com 21% do volume comercializado, são usados em algodão, soja, café, milho, tratamento de sementes de milho, feijão, batata-inglesa, citros, formigas em geral e fumo;
- c) fungicidas – representando 16% do total comercializado, são aplicados em café, soja, batata-inglesa, trigo, feijão, horticultura, tratamento de sementes de soja, tomate-envergado, citros e tomate-rasteiro.

Assim, conhecendo o tipo de cultura explorada em determinado solo ou região pode-se ter boa idéia de que tipo de pesticida está sendo depositado no solo e, partindo-se do comportamento do princípio ativo, inferir sobre os riscos potenciais desses insumos. É interessante ressaltar que o tipo de produto empregado muda continuamente por questões agrônômicas, como eficácia do produto ou tecnológica devido ao surgimento de novos produtos ou novas maneiras de exploração agrícola. Um exemplo atual disso é o emprego de cultivares geneticamente modificadas para tolerância a herbicidas, como aqueles à base de glifosato e plantas resistentes a pragas lepdópteras, como aquelas expressando as toxinas do *Bacillus thuringiensis*. No primeiro caso, a adoção de cultivos transgênicos tem resultado em grande aumento no uso de glifosato no agrossistema, o que requer medidas mitigadoras para evitar danos, enquanto, no segundo caso, há redução substancial no emprego de inseticidas. Para mais detalhes sobre as conseqüências desses cultivos no contexto de mudança no uso de pesticidas, consultar Siqueira et al. (2004).

Estima-se ser consumido globalmente cerca de dez milhões de toneladas de ingredientes ativos de herbicidas. Segundo Schäffer (1993), considerando a área de terra arável no planeta de 13,8 milhões de km² e taxas usuais de aplicação de pesticidas variando de 0,1 a 10 kg ha⁻¹ de ingrediente ativo, tem-se uma aplicação média de 0,7 kg ha⁻¹ ano⁻¹. No Brasil, essa taxa atinge 3,2 kg ha⁻¹ de produto. Em termos de material orgânico, isto é muito pouco em relação à quantidade de C-orgânico existente na camada arável do solo, que atinge de 80 a 100 Mg ha⁻¹ de C. Entretanto, quando se considera que as substâncias xenobióticas não degradam com a mesma velocidade que as de origem biogênica e que estas são mais bioativas que as moléculas naturais, as moléculas de pesticidas merecem atenção muito especial com relação ao seu destino e impacto nos processos do solo e dos ecossistemas. Aspectos relacionados à Microbiologia e Bioquímica do Solo, como persistência, impacto no solo e biodegradação são abordados neste capítulo.

6.2. O destino e o comportamento dos pesticidas

Os pesticidas são aplicados geralmente sobre as plantas (culturas e plantas daninhas) ou diretamente sobre o solo ou sementes. Seus efeitos vão além do organismo alvo (praga, patógeno) podendo causar interferências nas plantas, na biota da parte aérea e do solo (**Figura 6.2**). O uso destes produtos, portanto, pode resultar em muitos efeitos indiretos sobre os componentes do ecossistema agrícola. Uma fração residual fica nos tecidos vegetais, nos organismos e no solo. A fração que atinge o solo sofre inúmeras interações químicas com a fase inerte e com a biota, além de sofrer várias alterações químicas que determinam a dissipação ou a persistência, assim como seu impacto no ecossistema (**Figura 6.3**). *Persistência* é definida como o período em que o produto permanece no solo em forma dissolvida na água, vaporizado no ar, adsorvido ou ocluído nas partículas minerais e orgânicas do solo. *Dissipação* refere-se à fração do pesticida que é degradada ou permanece no solo em formas diferentes da original do produto. Assim, a dissipação mede o desaparecimento do composto original no solo e pode abranger vários processos como mineralização, degradação, formação de complexos com outros compostos, absorção e transporte (Lavorenti et al., 2003). Esta é geralmente medida pelo *índice de meia-vida* ($t_{1/2}$) que expressa o tempo necessário para que 50% da quantidade aplicada se encontre dissipada no solo. A dissipação é avaliada por análise cinética de primeira ordem, aplicando-se a equação $C = C_0 e^{-kt}$, onde C é a concentração do pesticida remanescente no tempo t , C_0 , a concentração inicial e k , a constante de velocidade da reação (dia^{-1}). A meia vida é calculada pela equação: $t_{1/2} = 0,693/K$

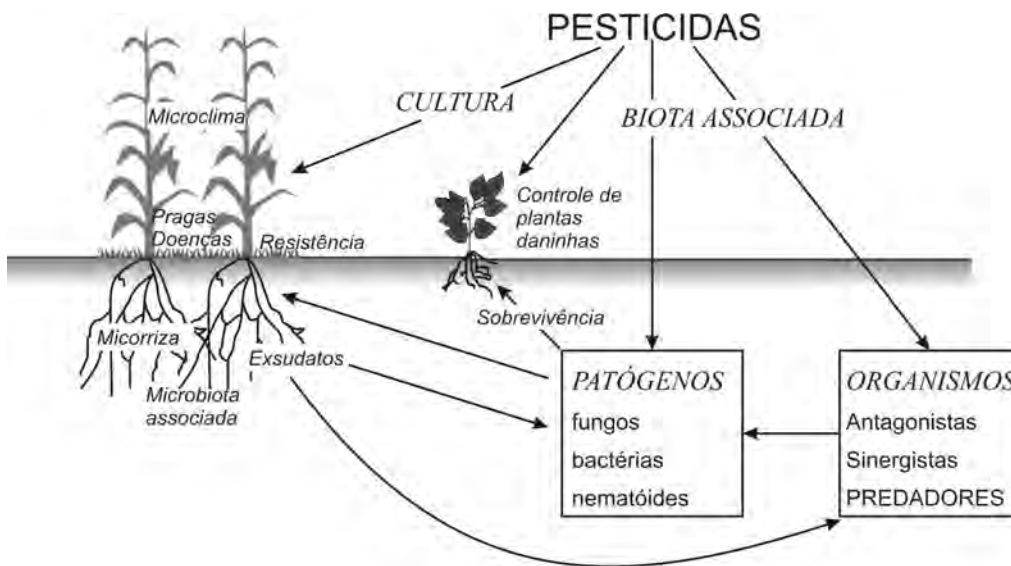


Figura 6.2. Possíveis efeitos dos pesticidas sobre os componentes bióticos do agrossistema.

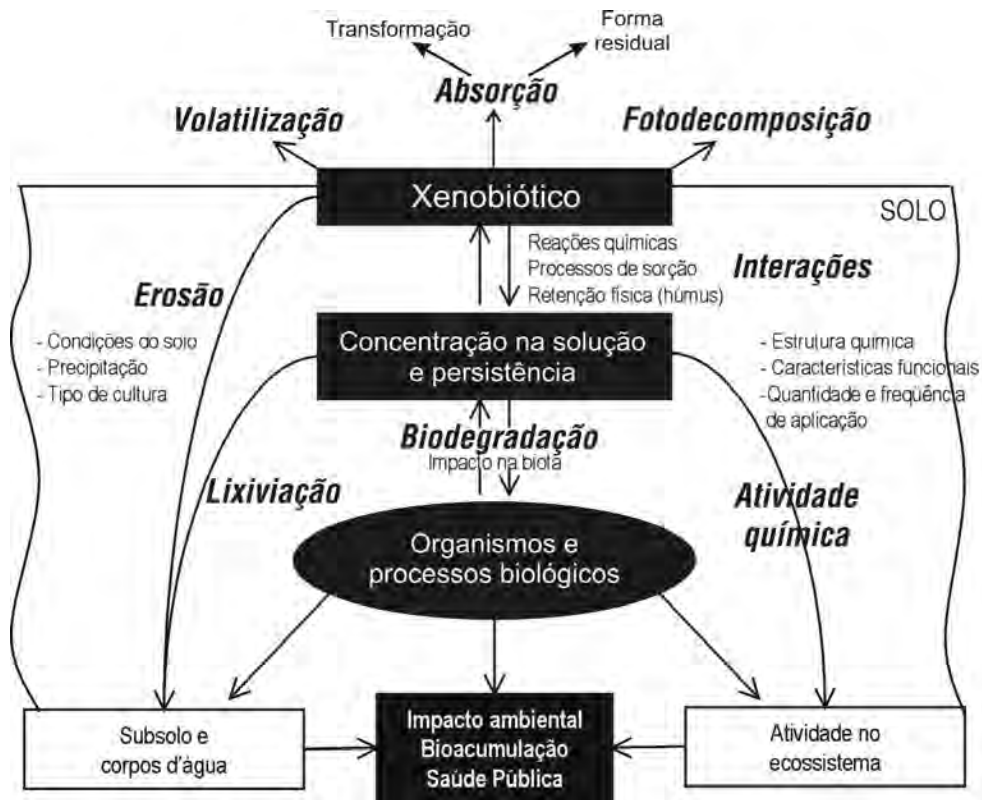


Figura 6.3. Processos e transformações que regulam a persistência, o destino e os impactos potenciais dos xenobióticos.

Em muitos casos, a molécula é rapidamente dissipada como o glifosato, por exemplo, cujo $t_{1/2}$ em solos brasileiros é geralmente inferior a 10 dias, mas, em outros casos, a meia-vida é próxima de 60 dias. Deve-se ressaltar que alguns produtos, ao se dissipar, geram metabólitos tão ou mais tóxicos que a molécula original. Alguns exemplos desse fenômeno são: o fungicida clorotalonil, o herbicida atrazina e o inseticida paration.

É importante considerar que a dissipação não representa, de forma abrangente, o comportamento e o destino dos pesticidas. Em muitos casos, deve-se caracterizar e avaliar o comportamento dos metabólitos, que, como já mencionado, podem ser tóxicos ao próprio organismo-alvo do produto aplicado ou a outros. Um ótimo exemplo dessa situação é o fungicida clorotalonil, que também é um organoclorado de baixa persistência no solo, ao contrário de outros produtos como o DDT. Sua degradação no solo é via microbiana (Rigitano et al., 2001) produzindo três metabólitos diferentes. Um deles é um derivado hidroxilado (1,3-diciano-4-hidroxi-2,5,6-triclorobenzeno), que é cerca de 30 vezes mais tóxico que a molécula original. Além disso, é mais persistente e também mais móvel que o clorotalonil no solo, merecendo, portanto, cuidado muito especial.

Os xenobióticos podem ser transferidos do solo para os organismos, como plantas, através da absorção pelas raízes e para os componentes da biota microscópica e meso e macrofauna, entrando na cadeia trófica do ecossistema, podendo atingir o homem por diversas rotas de exposição, resultando em biomagnificação do produto. Podem, ainda, ocorrer transformações químicas que promovem sua volatilização e decomposição fotocatalítica ou degradação. Quando esta é resultante da ação direta dos microrganismos ou indireta de enzimas extracelulares, esse processo é conhecido como biodegradação, que se constitui na principal via de desaparecimento da maioria dos xenobióticos no solo (ver item 6.4). O produto adsorvido às partículas do solo pode ser arrastado com o material particulado pela erosão, até os corpos d'água, onde pode persistir e exercer enorme impacto na qualidade da água e na vida aquática, entrando na cadeia alimentar. Compostos em solução são também passíveis de perda, através da lixiviação para o subsolo, podendo atingir o lençol freático e aquífero, comprometendo a qualidade dos reservatórios subterrâneos de água, deixando evidentes os riscos potenciais desses produtos ao meio ambiente.

O comportamento e o destino de determinado composto no solo dependem principalmente de suas propriedades intrínsecas como estrutura química e aspectos funcionais da molécula. Outros fatores como a quantidade e a frequência de aplicação, condições físicas, químicas e biológicas do solo, são também de igual importância. Esse conjunto de fatores tem atuação muito complexa e determinará a quantidade do composto em solução ou biodisponível, seu comportamento e efeito no ecossistema, seu impacto sobre os organismos e processos biológicos do solo, além de taxas de transformação e potencial de lixiviação para as camadas mais profundas do solo como ilustrado na figura 6.3. Como conceitualizado nessa figura, a quantidade de composto em solução é fator determinante do comportamento da molécula, sua persistência e efeitos nos componentes do ecossistema.

O comportamento do pesticida no solo pode ser conhecido pela relação entre a quantidade do composto retida nas frações do solo e aquela em solução, a qual é definida como *coeficiente de sorção* ou de *partição* (*CP* ou *Kd*). Portanto, *CP* é a razão entre a quantidade adsorvida nas partículas do solo e a dissolvida na solução. Compostos não adsorvidos apresentam valor de *CP* igual a zero, ou seja, são encontrados totalmente em solução, de modo que, quanto maior o *CP*, mais adsorvido (retido) este se encontra no solo. Exemplos de valores de *CP* para alguns xenobióticos encontram-se na **tabela 6.1**. Os valores de *CP* dão idéia de comportamento como lixiviabilidade, que, conforme nessa tabela, diminui do Dicamba para o DDT. O coeficiente de partição tem relação com a solubilidade em água, apresentando compostos menos solúveis maiores valores de *CP*.

Vários fatores influenciam a retenção dos pesticidas no solo, destacando-se o conteúdo de C que influencia mais aqueles não-iônicos. Em função disso, convencionou-se expressar o *CP* em relação ao C orgânico (*CP_{oc}*) conforme a equação a seguir:

$$CP_{oc} = \frac{CP \times 100}{C_{orgânico}}$$

onde *CP_{oc}* em dag kg⁻¹

Tabela 6.1. Exemplos de valores para coeficiente de partição de vários pesticidas no solo (Rao et al., 1983).

Pesticida	Coeficiente de partição*
Dicamba	1
Aldicarbe	10
Carbofuran	29
2,4-D	32
Bromacil	72
Simazina	158
Atrazina	172
Propazina	207
Carbaxyl	229
Ametrina	380
Prometrina	513
Linuron	841
Malation	1.778
Paration	7.161
DDT	243.000

* Expressa a razão da quantidade retida nas partículas e na solução do solo.

Em geral, quanto maior o CP_{oc} , maior a lipofilicidade (solubilidade em lipídeos) da molécula, portanto, maior retenção e menor mobilidade no solo. Por exemplo, o CP_{oc} do Aldicarbe varia de 6,0 a 48, enquanto o do glifosato de 27 a 33.000. Essas características são importantes indicadores do comportamento e impactos potenciais dos xenobióticos no solo. Por exemplo, menor retenção pode favorecer a degradação, mas oferece maior risco de lixiviação, enquanto alta retenção pode favorecer o acúmulo no solo e o risco a longo prazo.

A persistência do pesticida no solo pode ser expressa em termos relativos como o tempo necessário para a bioatividade de determinado composto alcançar um dado nível percentual em relação ao original. Pode ainda ser avaliada pelo tempo que a substância permanece inalterada ou em termos de taxa de desaparecimento, empregando-se, nesse último caso, modelos de análises cinéticas e seus parâmetros, como a *meia vida*, que corresponde ao tempo para a concentração inicial ser reduzida à metade. Na literatura são relatados valores para meia vida, que variam de 2 dias para o Timet (Granutox) a 10-12 anos para alguns hidrocarbonetos clorados. O tempo que o composto ainda é detectável no solo também indica, de certo modo, sua persistência e tem sido bastante empregado. Este pode ser, por exemplo, de apenas 10 semanas para o Dalapon a mais de 20 anos para o Clordane e o Dieldrin e 40 anos para o DDT. Com base nesse parâmetro, os pesticidas podem ser classificados em:

- a) *não persistentes* – aqueles com meia vida inferior a 3 meses;
- b) *moderadamente persistentes* – com meia vida de 3 a 12 meses;
- c) *persistentes ou recalcitrantes* – com meia-vida superior a 12 meses.

Os valores para persistência variam muito em função dos fatores que a controlam, encontrando-se alguns exemplos na **tabela 6.2**. Valores médios generalizados da literatura são: organoclorados mais de 18 meses; herbicidas do grupo da uréia, triazinas, picloram, ácido benzóico e amidas de 2 a 18 meses; inseticidas fosforados até 4 meses e outros produtos utilizados com vários herbicidas, os carbamatos e os ácidos alifáticos, de duas a doze semanas. Como se espera, a persistência é inversamente relacionada à degradação, conforme a **figura 6.4**, que mostra o comportamento hipotético de quatro xenobióticos. O composto A, que é prontamente degradado, apresenta baixa persistência, enquanto em outro extremo tem-se o composto D, com degradação muito lenta, isto é, elevada recalcitrância, e que, por isso, pode persistir por longo tempo no solo. Os compostos B e C apresentam comportamentos intermediários.

Tabela 6.2. Valores de persistência de alguns pesticidas no solo (Dados de vários autores compilados de Siqueira, 1991).

Grupos de pesticidas	Valor médio (anos)
Inseticidas	
Organoclorados - Clordane	12,0
DDT	10,0
BHC	11,0
Heptacloro	9,0
Aldrin	9,0
Organofosforados	0,2 a 0,5
Herbicidas	
Ácido benzóico e amidas	1,0
Triazinas e picloranas	1,5
Toluidina, nitrilas e fenoxis	0,5
Carbamatos e ácidos alifáticos	0,2
Fungicidas - Diversos	0,1 a 0,5

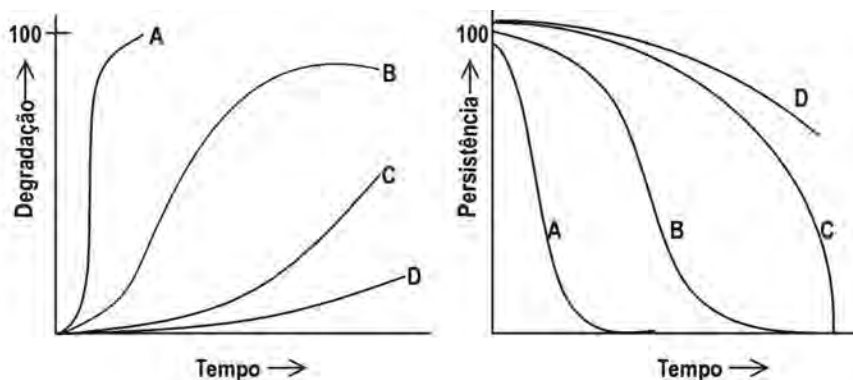


Figura 6.4. Relações hipotéticas entre a degradação e a persistência de xenobióticos no solo. A, B, C e D são compostos diferentes, mas que correspondem aos mesmos compostos nas duas figuras.

Uma das características comportamentais importantes dos pesticidas é sua degradabilidade que, como mencionado, tem relação direta com a persistência. Esta é muito diferenciada entre os xenobióticos, sendo determinada por várias características do próprio composto, do solo e da microbiota e interações, sendo regida por diversos fatores (**Figura 6.5**). Vários deles e tópicos específicos da degradação são abordados em outras partes deste capítulo e em literatura específica listada no final. Em termos gerais, a persistência é consequência da baixa taxa de hidrólise abiótica, da baixa susceptibilidade à degradação biológica (alta recalcitrância), da baixa volatilização, da baixa mobilidade e da elevada partição no solo. No Brasil, o órgão ambiental (IBAMA) baseia-se na taxa de liberação de $^{14}\text{CO}_2$ do produto num período de incubação de 28 dias para avaliar se o produto é persistente ou não, categorizando os xenobióticos em não persistentes e de persistência reduzida, média e alta (**Tabela 6.3**).

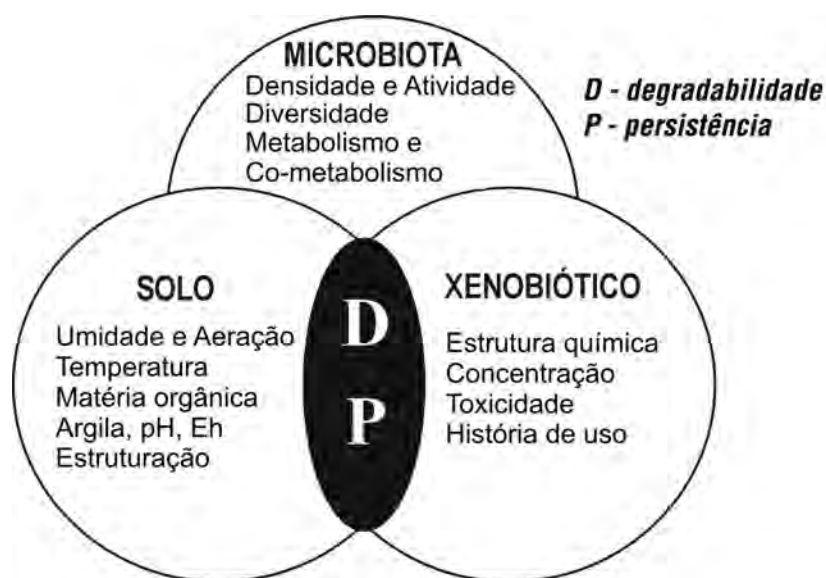


Figura 6.5. Principais fatores e suas inter-relações que controlam a degradabilidade, degradação e persistência de xenobióticos no solo.

Tabela 6.3. Categorização da persistência de pesticidas, conforme IBAMA (1990).

Liberação $^{14}\text{CO}_2$ *	Meia Vida (dias)	Persistência
0 a 1%	Acima de 180	Alta
1 a 10%	Entre 90 e 180	Média
10 a 25%	Entre 30 e 90	Reduzida
Acima de 25%	Abaixo de 30	Não persistente

* Baseado no desprendimento de $^{14}\text{CO}_2$ em 28 dias.

Um aspecto interessante a considerar no contexto da persistência dos xenobióticos no solo é o nível potencial de sua acumulação, o que depende, além do período de uso, da taxa e frequência de aplicação e da taxa de desaparecimento do produto naquelas condições. Cálculos teóricos indicam valores para essa característica de poucos kg ha⁻¹ para Aldrin e Dieldrin, a mais de 100 kg ha⁻¹ para Toxafeno e Clordane e até 500 kg ha⁻¹ para o DDT, conforme Siqueira & Franco (1988). O DDT é muito recalcitrante e, por isso, tem sido objeto de vários estudos de persistência e acumulação no solo. Dimond & Owen (1996), em estudo desenvolvido no Estado do Maine (EUA), verificaram que o DDT aplicado na década de 50 para controlar a praga florestal *Choristoneura fumifera* (Clem), que ataca as brotações das árvores, foi detectado ainda em concentrações elevadas no solo quase meio século depois. A partir de 1958, aplicou-se DDT na dose de 1,12 kg ha⁻¹ e, em 1967, a quantidade total determinada no solo alcançou 5,9 mg kg⁻¹, valor que decresceu para 1,6 mg kg⁻¹ de solo em determinação feita em 1993. Houve uma redução, portanto, da concentração média de DDT no solo superior a 60% em 26 anos, mais acentuada na última década da amostragem. Esses pesquisadores verificaram ainda que o DDT residual encontrava-se na camada superficial do solo (1 a 6 cm), indicando que o composto não foi lixiviado. Observaram também alterações nas quantidades relativas de DDT e seus principais produtos de transformação: o DDE e o DDD (item 6.4). Em 1967, 92% do total de resíduos se encontravam como DDT; já em 1993, esse composto representava apenas 39%; DDE, 31% e DDD, 30% do total de resíduos encontrados, indicando, pois, que o produto é capaz de sofrer alterações químicas no solo. Outros aspectos da biodegradação do DDT serão abordados mais adiante neste capítulo.

Os compostos de alta persistência tendem a sofrer *bioconcentração*, o que facilita sua transferência na cadeia trófica. Esse fenômeno é favorecido por certas características químicas do composto, como: massa molecular entre 100 e 360; altas proporções de ligações C-C e C-halogênios; baixa solubilidade em água; baixa ionização e baixa degradabilidade (Souza-Silva & Fay, 1997). Vários compostos apresentam esse comportamento, sendo chamados de compostos orgânicos poluentes persistentes (*POPs*); não são mais registrados para qualquer uso na maioria dos países desenvolvidos ou estão sendo banidos naqueles onde eram registrados. Os *POPs* mais conhecidos são: DDT, Aldrin, Clordane, Heptacloro, Toxafeno, Dioxinas, Furanos e PCBs. No Brasil, todos os organoclorados de alta persistência foram largamente empregados, mas estão proibidos para comercialização na agropecuária há bastante tempo, conforme portaria nº 329 de 2/9/1985 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

6.3. O impacto sobre a biota e sobre os processos do solo

O impacto dos xenobióticos sobre o meio ambiente é assunto muito sério, complexo, polêmico e amplamente debatido por toda a sociedade e comunidade científica. Este capítulo se restringe ao enfoque do impacto sobre a microbiota e processos biológicos do solo, o que é difícil de ser discutido com precisão, devido à natureza, heterogeneidade, dinâmica dos efeitos em função de respostas adaptativas das populações microbianas do solo. Tentativas de avaliá-los, bem como a capacidade da microbiota do

solo em degradar esses produtos, têm atraído a atenção dos microbiologistas, de tal modo que a relação microbiota-xenobiótico constitui, hoje, um importante campo de pesquisa da Microbiologia e Bioquímica do Solo e da Microbiologia Ambiental. Especialistas procuram entender melhor dois aspectos principais, a saber: a) a biodegradação dos xenobióticos e a redução da bioacumulação; b) o impacto desses produtos na atividade dos microrganismos e a intensidade de processos bioquímicos essenciais à boa qualidade do solo e funcionamento do ecossistema. A biodegradação dos xenobióticos constitui um dos mais importantes papéis da biota do solo, capaz de se adaptar a essa função, promovendo a destoxificação desse ambiente. Por esse papel e outros discutidos no capítulo 4, a microbiota torna-se um grande aliado dos agricultores. Sem a destoxificação dos xenobióticos o solo se tornaria um imenso depósito de tais substâncias com efeitos adversos, o que comprometeria a qualidade do ambiente, da água e dos alimentos.

Estudos *in vitro* revelam que a maioria dos xenobióticos é potencialmente tóxica para os microrganismos. Por exemplo, Olson et al. (1984) fizeram ampla pesquisa sobre o efeito da trifluralina em concentrações até de 100 mg g⁻¹ de solo no crescimento de vários microrganismos em cultura pura, encontrando os seguintes resultados: de vinte espécies fúngicas, não houve efeito inibitório para a maioria delas: apenas *Mortierella isabellina* e duas espécies de *Penicillium* foram inibidas em concentrações acima de 50 mg g⁻¹ de solo. Esse herbicida inibiu inclusive patógenos importantes como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* e *Sclerotium*. Estudaram-se 22 espécies de bactérias e todas mostraram sensibilidade muito variada. Enquanto algumas foram muito sensíveis, como o *Bacillus megaterium*, inibido apenas com 0,4 mg g⁻¹ de solo, outras, como *Azospirillum brasiliensis*, *Azotobacter* sp., *Enterobacter* e *Pseudomonas* só foram inibidas em concentrações de 100 mg g⁻¹. As espécies de rizóbio e *Streptomyces* avaliadas apresentaram comportamento variado, mas todas foram inibidas na concentração mais elevada da trifluralina testada. Respostas semelhantes foram observadas para os processos microbianos, mas, devido à “redundância funcional”, mesmo que um produto iniba certos microrganismos, funções globais como atividade heterotrófica medida pela liberação de CO₂ podem não ser afetadas. Como ilustrado na **figura 6.6**, a aplicação da palhada de trigo no solo aumentou a respiração, independentemente da presença ou da ausência da trifluralina. Portanto, a aplicação do produto não interferiu na atividade decompositora do solo, fato amplamente documentado na literatura para esse e outros herbicidas. O que os resultados como esses não mostram é quais organismos estão decompondo a palha em cada situação. A microbiota decompositora pode diferir substancialmente em termos qualitativos, entre o solo que recebeu e aquele sem aplicação do produto, mas possuem atividade catabólica idêntica. Mudanças na população podem ter efeito a longo prazo. As técnicas mais modernas de estudo da ecologia microbiana no solo, empregando procedimentos moleculares, permitem avaliar com bastante precisão as possíveis mudanças na comunidade microbiana.

Embora possam ser facilmente demonstráveis em condições controladas, os efeitos dos pesticidas sobre a microbiota são muito variáveis e difíceis de serem avaliados em condições de campo. Podem ser negativos ou positivos e, por isso, devem ser avaliados e interpretados com muito critério e cautela, através de indicadores apropriados. Embora os pesticidas atualmente adotados sejam geralmente muito específicos, ainda assim podem causar efeitos colaterais interferindo na comunidade de organismos não-alvo (Figura 6.2). Isso pode ocorrer direta ou indiretamente através de seus efeitos

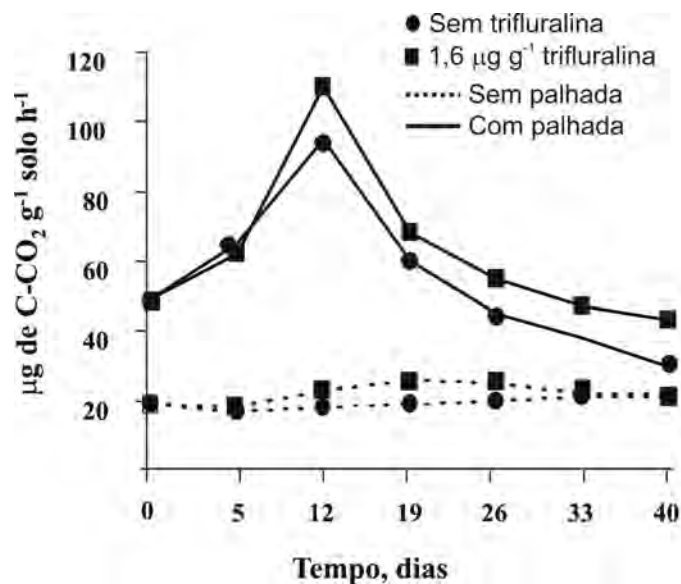


Figura 6.6. Respiração microbiana de solo tratado com trifluralina na presença e na ausência de palhada de trigo. (Olson et al., 1984.)

sobre as plantas, sobre a exsudação radicular, que pode ser alterada pela aplicação do produto ou pela maior adição de resíduos vegetais ao solo como ocorre com os herbicidas dessecantes, por exemplo. Também a deposição no solo de materiais vegetais contendo concentrações elevadas de xenobióticos, como plantas invasoras mortas por herbicidas, pode reduzir sua degradação pelos heterotróficos do solo, retardando o desaparecimento dos restos vegetais. Os pesticidas podem, ainda, atuar de modo diferenciado sobre patógenos ou sobre seus antagonistas e predadores e, ainda, sobre microrganismos mutualistas com raízes, interferindo, assim, na sanidade e na produtividade das culturas.

Os efeitos dos pesticidas sobre a biota do solo devem ser avaliados quanto a sua magnitude e reversibilidade do efeito adverso. Como ilustrado na **figura 6.7a**, respostas reversíveis à aplicação de determinado produto no solo podem causar um efeito depressivo temporário, permitindo avaliar o tempo necessário para recuperação da resposta ao nível do controle sem o produto. Do mesmo modo, essas respostas podem ser apreciadas através do tempo necessário para recuperar o impacto causado pelo produto, quando comparado ao controle. Esse tipo de análise permite determinar o grau de impacto (magnitude da depressão) e o tempo para recuperação do nível da atividade original em função de alguma ação mitigadora do impacto. Para produtos com efeitos não reversíveis, tem-se um déficit permanente na resposta do período considerado (**Figura 6.7b**), que pode variar com o tempo, mas sempre existirá ao longo do período analisado. Domsch et al. (1983) analisaram 48 estudos publicados e, considerando o tempo necessário para a população microbiana sob estresse de pesticidas recuperar-se desse impacto, verificaram que, em 30 casos, houve a recuperação em menos de 30 dias, e que apenas em dois casos foram necessários mais de 60 dias para recuperação da população ao nível do

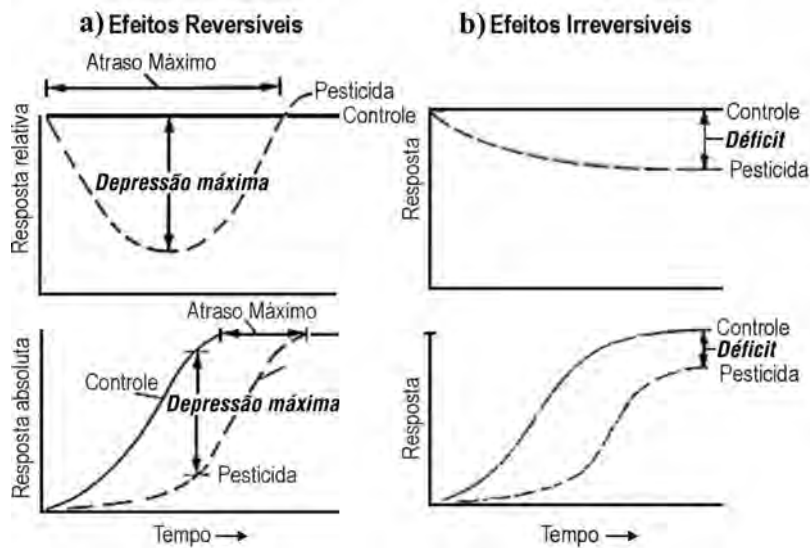


Figura 6.7. Representação da magnitude e reversibilidade das respostas dos organismos e processos à aplicação de xenobióticos. Resposta relativa e absoluta (ex. CO_2 acumulativo) em função do tempo. (Edwards, 1989.)

controle. Concluíram que, de modo generalizado, os efeitos dos pesticidas sobre a biota são de curta duração, e geralmente não mais severos que aqueles causados por estresses naturais como anaerobiose e compactação do solo, predação microbiana e flutuações térmicas no solo.

A avaliação dos efeitos impactantes dos pesticidas varia em função do método empregado, considerando ainda as diferenças na sensibilidade da variável resposta e interações diversas entre diferentes organismos, grupos ou processos bioquímicos no solo. A sensibilidade de determinada característica depende do produto, da sua especificidade como biocida, modo de ação e da concentração, sendo, portanto, muito impreciso e difícil fazer generalizações sobre tais efeitos. Não existem procedimentos mais apropriados para avaliar o impacto dos xenobióticos, mas sempre se deve optar por aqueles relacionados ou indicadores de funções essenciais à produtividade do ecossistema. Partindo de uma análise empírica das respostas relatadas em 734 estudos com 71 pesticidas diferentes envolvendo 25 processos biológicos, Domsch (1984) relata que a atividade da fosfatase ácida, degradação da matéria orgânica e nitrificação são indicadores sensíveis, enquanto desnitrificação, atividade da urease e fixação não simbiótica de N_2 são insensíveis aos produtos testados. Outras avaliações, como taxa de amonificação, produção de CO_2 , absorção de O_2 e atividade da desidrogenase são de sensibilidade intermediária. Desse modo, os efeitos dos pesticidas sobre os organismos são relativos e não absolutos; são muito variáveis, em função da natureza do produto, dosagem, frequência de aplicação (período e intensidade da exposição), condições ambientais (solo, clima, vegetação ou cultura) e tipo de resposta microbiana empregada. Entretanto, efeitos negativos existem conforme alguns exemplos dos impactos causados por três pesticidas distintos apresentados na **tabela 6.4**.

Tabela 6.4. Impactos de pesticidas na densidade de populações de microrganismos e processos no solo, avaliados pela diminuição em relação ao controle (Modificado de Domsch et al., 1983).

Característica	Brometo de metila	% de redução	
		2,4 D	Atrazina
População rizóbio	99 (30)*	85 (34)	55 (79)
População actinomicetos	43 (365)	50 (32)	0 (85)
População de fungos	78 (28)	0	63 (100)
Nitrificação	99 (84)	14 (28)	26 (82)
Respiração	11 (660)	6 (14)	7 (19)

* Número entre parênteses refere-se ao período de monitoramento do experimento em dias.

Não há dúvida de que agentes tóxicos, ao atingir o solo, podem interferir no ecossistema, mas sua significância ecológica no contexto da Microbiologia do Solo ainda não pode ser bem determinada. O período de recuperação ou atividade residual da população para impactos negativos, de 10 a 99%, considerando o tempo necessário para dobrar o valor da resposta, encontra-se na **figura 6.8**. Verifica-se que o tempo de recuperação depende essencialmente do nível de atividade residual. Quanto mais alta, menor o tempo necessário para a recuperação da atividade microbiana que foi impactada. Deve-se considerar que mesmo as depressões severas podem ser reversíveis em período mais longo. Na maioria dos casos, a microbiota se recupera, podendo até mesmo retornar a níveis superiores ao original. Em trabalho clássico, realizado por Martin & Focht (1977), verificaram que o tratamento de um solo com cloropicrina reduziu suas populações de bactérias, um dia após a aplicação, de 48×10^6 para 4×10^6 bactérias por grama de solo, porém 10 dias após, o solo tratado tinha 71×10^6 bactérias g^{-1} de solo. Respostas como essas não são incomuns, mas existem também inúmeros casos de depressão duradoura sobre a comunidade microbiana. Isso depende do produto, do modo e da quantidade aplicada. Resultados como os observados por esses autores podem ser explicados das seguintes maneiras:

- a) o material celular dos microrganismos mortos torna-se substrato prontamente disponível para os sobreviventes ou invasores, que, por não sofrer competição no solo tratado, proliferam abundantemente;
- b) os resíduos do pesticida aplicado podem servir de fonte de carbono, energia e nutrientes inorgânicos para os sobreviventes;
- c) o produto promove modificações físicas, químicas e físico-químicas no solo, favorecendo a proliferação microbiana, após o final do período de ação do biocida.

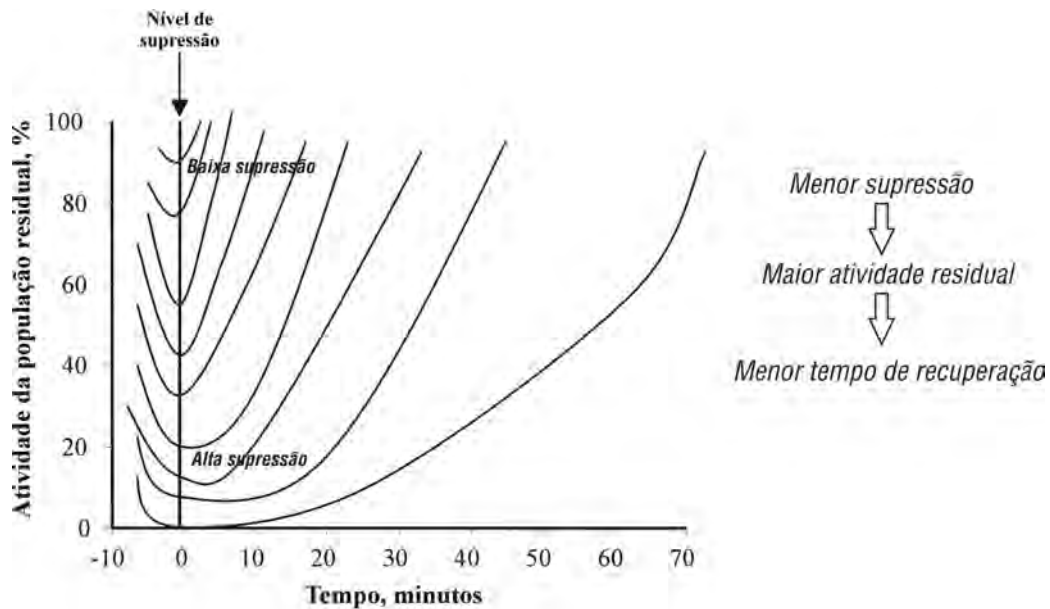


Figura 6.8. Curvas de respostas para o tempo de recuperação do impacto em função da atividade biológica residual (supressão). Cálculo do período de recuperação dos microrganismos suprimidos de 10 a 99% em relação ao controle. (Domsch, 1984.)

Outro aspecto importante é o fato de que as características avaliadas na maioria dos estudos sobre o impacto dos pesticidas são essencialmente quantitativas, desprezando-se aspectos qualitativos como estruturação e biodiversidade da comunidade, como já comentado. Segundo Langenbach (1994), em geral bactérias gram-positivas são mais sensíveis aos compostos organoclorados do que as gram-negativas, enquanto *Bacillus megaterium* é severamente inibido por 10 diferentes inseticidas, *Sarcina lutea* é inibida por apenas dois. Esses efeitos diferenciados dos pesticidas podem, ao longo do tempo, causar desbalanço na comunidade microbiana, com conseqüências negativas às culturas e à qualidade do solo. Isso, no entanto, é um fenômeno ainda muito pouco evidenciado na prática, mas sua ocorrência é muito provável onde se pratica monocultura prolongada com uso freqüente e continuado do mesmo produto, condição de manejo que não deve ser preconizada.

Levando em conta magnitude, duração, reversibilidade ou persistência dos efeitos dos xenobióticos, como conceitualizado na figura 6.7, Domsch et al. (1983) admitiram que tais efeitos podem ser classificados em:

- a) críticos – quando a duração for superior a 60 dias;
- b) toleráveis – duração de 30 a 60 dias;
- c) negligíveis – duração menor que 30 dias.

Alguns exemplos dessas categorias encontram-se na **tabela 6.5**. Embora difícil de fazer extrapolação dos resultados para o campo, os autores admitiram que aqueles com duração superior a 60 dias são considerados potencialmente perigosos ao ambiente. Utilizando esses conceitos, Domsch et al. (1983) verificaram que, apenas em 1% de 1.630 estudos analisados, as respostas seriam consideradas críticas e, assim, com possível impacto sobre o ambiente. Eles sugerem que “*a aplicação de pesticidas específicos, em doses recomendadas, não resultam em efeitos crônicos prejudiciais aos microrganismos não-alvo, e aos processos microbiológicos do solo*”. Esses resultados são muito interessantes, mas devem ser interpretados com cautela, por tratarem em sua maioria, de estudos desenvolvidos em condições controladas. Apesar do potencial de impacto negativo dos pesticidas, não existem evidências de campo sobre efeitos deletérios irreversíveis desses sobre a comunidade microbiana do solo e seus processos, salvo casos específicos como fungicidas sistêmicos sobre fungos micorrízicos, por exemplo. Na avaliação do potencial de impacto sobre o solo, deve-se considerar, além da toxicidade do produto, sua taxa de acumulação, que reflete a quantidade aplicada e sua persistência. As quantidades necessárias para inibir processos específicos, como a mineralização do N em mais de 25%, são geralmente muito elevadas, em torno de 10 kg ha⁻¹ para Dieldrin e Alachlor e, superior a 100 kg ha⁻¹, para vários outros produtos (Siqueira & Franco, 1988).

Tabela 6.5. Perfil ecotoxicológico dos pesticidas no solo e categorização do impacto (Conforme Domsch et al., 1983).

Categoria do efeito produzido	Exemplo de composto	Organismo ou processo avaliado
Efeito crítico (inibição persistente por mais de 60 dias).	Brometo de metila	Rizóbio, actinomicetos, nitrificação, respiração, micorriza, <i>Pseudomonas</i> e amilase.
Efeito tolerável (inibição reversível entre 30 e 60 dias).	2,4-D	Fixadores anaeróbios de N, degradadores de celulose, actinomicetos, respiração e nitrificadores.
Efeito negligível (reversível em menos de 30 dias).	Atrazina	Produção de CO ₂ , degradadores de amido e atividade de desidrogenase.

Análises mais recentes sobre o impacto do uso de pesticidas sobre os processos biológicos do solo estão em conformidade com as considerações feitas por Domsch et al. (1983), já comentadas. Schäffer (1993) avaliou a literatura disponível sobre interação enzimas-pesticidas e, após analisar 3.000 artigos publicados, concluiu que “*existem poucas evidências de que os pesticidas, quando aplicados adequadamente, interferem significativa e permanentemente na atividade microbiana do solo*”. As respostas

verificadas para a atividade enzimática ou outros processos bioquímicos são como no exemplo a seguir, apresentadas pelo autor supracitado. Em um solo arenoso com 3 g kg⁻¹ de matéria orgânica e pH 7,5, a aplicação de 5 mg kg⁻¹ de atrazina reduziu 40% a atividade da desidrogenase, mas em 30 dias após a aplicação, essa atividade era semelhante ao controle. Portanto, trata-se de efeito negligível (Tabela 6.5) conforme conceitualizado neste texto. Também Moorman (1989), em análise crítica sobre os estudos do impacto de pesticidas nos organismos e processos no solo, nos EUA, conclui que:

- a) os organismos do solo respondem diferentemente aos pesticidas;
- b) a população total e os processos bioquímicos são pouco afetados por pesticidas aplicados na dosagem recomendada;
- c) a maioria dos efeitos adversos dos pesticidas sobre os microrganismos ou processos não é severa;
- d) os efeitos negativos, quando ocorrem, são reversíveis e não são mais severos que aqueles causados por estresses ambientais;
- e) certos produtos, como fungicidas sistêmicos, fumigantes e mercuriais, inibem ou eliminam microrganismos simbióticos como rizóbio e fungos micorrízicos;
- f) os efeitos negativos dos pesticidas exercem pouca influência nos processos relacionados à fertilidade do solo.

Apesar dos resultados sobre o impacto dos pesticidas apresentarem certa consistência, quanto a seus efeitos imediatos, ainda resta grande preocupação com os impactos causados pelo uso prolongado de certos produtos. Isso tem despertado grande interesse dos especialistas, existindo alguns resultados interessantes. No Canadá, o uso de 2,4-D por 35 anos, avaliado por Biederbeck et al. (1987), indicou ausência de qualquer efeito ecologicamente importante nos processos bioquímicos do solo e ciclagem de C, N e P. Na Inglaterra, Bromilow et al. (1996) verificaram que o emprego dos herbicidas MCPA, Tri-allate, Simazina e Linuron por 16 anos não teve efeito em qualquer característica relacionada à fertilidade do solo. Verificaram, também, que o uso de aldicarbe, benomil, chlorofeninfos, glifosato e triadimefon, não causou efeitos deletérios nos processos microbianos e na fertilidade do solo. Semelhantemente, Moorman & Dowler (1991) não encontraram nenhuma influência de 7 anos de aplicação de Trifluralina e Alachlor na população microbiana de um solo no Sul dos EUA. Nos estudos citados não houve alteração alguma na produtividade das culturas ao longo do período estudado. Estes resultados de campo, portanto, corroboram aqueles resultantes de análises de experimentos em condições controladas ou de curta duração, avaliados por Domsch et al. (1983).

Quando se busca entender o impacto dos pesticidas sobre o solo e seus processos, é necessário fazer uma avaliação criteriosa e holística envolvendo todas as interações bióticas e abióticas. Apesar desse cenário complexo, evidências científicas disponíveis permitem afirmar que *“desde que os pesticidas sejam aplicados seguindo-se rigorosamente as recomendações técnicas, seus efeitos ecológicos e funcionais na comunidade microbiana do solo são geralmente temporários”*. Ainda assim, o uso de qualquer pesticida deve ser evitado quando possível, especialmente o uso prolongado de produtos do mesmo princípio ativo ou com mecanismos de ação semelhantes. Isto pode exercer efeito diferenciado sobre a comunidade microbiana, causando modificações qualitativas, que podem gerar desequilíbrios

microbiológicos, com possíveis prejuízos para as atividades agrícolas. Deve-se ressaltar que em casos de vazamentos acidentais de produtos químicos ou uso prolongado do mesmo produto, certos grupos de organismos podem ser afetados de modo irreversível, e isso pode ter conseqüências indesejáveis à qualidade do solo e ao meio ambiente, merecendo atenção especial e tratamentos específicos de remediação da área.

Além do enfoque geral no âmbito da Microbiologia do Solo, é importante considerar os efeitos sobre grupos microbianos funcionais ou situações específicas. Por exemplo, o crescimento e a atividade metabólica das cianobactérias são adversamente afetados por herbicidas. No caso de uso de inoculantes microbianos como o de rizóbio, é importante verificar a compatibilidade do produto com os microrganismos ou processos envolvidos. Em geral, fungicidas sistêmicos são fortes inibidores da micorrização das culturas. No caso das simbioses mutualistas, como de leguminosas e rizóbio e micorrizas, o uso de produtos com ação inibidora pode controlar o organismo-alvo, mas pode prejudicar a nutrição nitrogenada e fosfática da planta. Deve-se lembrar que produtos com certas características como: elevada toxicidade, baixa degradabilidade ou elevada mobilidade no solo, representam maiores riscos de danos funcionais ao solo e ao ecossistema, devendo ser evitados.

Os efeitos não-alvo dos pesticidas podem causar interferências positivas ou negativas nas interações biológicas, como: microrganismos-planta, microrganismos-fauna e entre os próprios microrganismos. Estes efeitos são muito complexos e difíceis de mensurar, assim como suas conseqüências para o agrossistema. Por exemplo, a aplicação de atrazina pode inviabilizar conídios do patógeno *Cochliobolus sativus* no solo; trata-se, portanto, de um efeito benéfico adicional desse herbicida ainda pouco explorado. Efeito semelhante a este tem sido observado para outros herbicidas e patógenos de solo. O Benomil, produto sistêmico usado no controle de doenças fúngicas, é eficaz em reduzir a incidência de várias doenças, mas, em muitos casos, isso não resulta em maiores produções porque ele inibe as micorrizas que favorecem a absorção de água e nutrientes pelas raízes. Neste caso, as plantas ficam livres da doença, porém, dependendo da cultura, das condições de solo e do manejo da adubação, podem tornar-se malnutridas pela eliminação do fungo simbiote. Paraquat e glifosato podem reduzir a decomposição de restos vegetais oriundos de plantas mortas por esses herbicidas, aspecto que pode ser positivo em algumas situações, como no plantio direto nos trópicos, ajudando a manter a palhada sobre o solo, porém, negativo em outras situações, onde a decomposição é lenta como em regiões de clima frio.

Também merecem comentários as disfunções induzidas nas plantas por xenobióticos residuais no solo. No caso de herbicidas, têm-se os chamados “carryover”, ou efeitos residuais do herbicida aplicado na cultura anterior, os quais têm grande impacto nas culturas em rotação. “Carryover” ocorre com vários princípios ativos como o herbicida imazaquin usado na soja. Quando, por alguma razão, este tiver decomposição reduzida no solo, permanecerá em concentrações residuais da ordem de ppb, mas que é suficiente para causar toxicidade em várias culturas, como hortaliças, gramíneas e algodão. Há também inúmeros relatos de cloroses induzidas por trifluralina em certas culturas como a soja. Esse fenômeno, portanto, é comum e muito sério, podendo ser resolvido com um manejo adequado. A fitotoxicidade de resíduos de herbicidas no solo pode ser minimizada por abundante colonização micorrízica da cultura, segundo Siqueira et al.(1991a). Esses autores demonstraram que a aplicação de isoflavonóides estimulantes da micorrização em solos com excesso do herbicida Scepter (imazaquin), estimulou a colonização

das raízes pelos fungos micorrízicos indígenas do solo e protegeu o milho, o sorgo e o trevo do estresse causado pelo herbicida residual. O isoflavonóide, nesse caso, atua de modo indireto como “protetor de efeitos dos herbicidas” para as culturas em sucessão. Esse conhecimento foi desenvolvido tecnologicamente e patentado nos EUA.

A interação entre xenobióticos e a microbiota do solo é muito intensa e complexa. Ao mesmo tempo que esses produtos podem afetar negativamente a microbiota, esta se encarrega de degradá-los, contribuindo, assim, para sua dissipação no ambiente.

6.4. Degradação dos xenobióticos no solo

A degradação dos xenobióticos no solo pode ser *abiótica*, isto é, sem a participação dos microrganismos ou de suas enzimas, e *biótica*, através de processos bioquímicos mediados direta ou indiretamente pelos microrganismos. A contribuição relativa de cada processo depende do composto e das condições químicas e biológicas do solo. Na maioria dos casos, a biodegradação é o mecanismo principal de degradação dos xenobióticos, constituindo numa das funções mais importantes da pedobiota. A capacidade atual dos microrganismos de degradar as substâncias orgânicas é resultante de milhões de anos de evolução. Por isso, compostos antropogênicos (sintéticos), com estruturas químicas às quais os microrganismos não têm sido expostos ao longo do processo evolutivo, são mais difíceis de ser decompostos. Acreditava-se que todas as substâncias naturais seriam biodegradáveis, “*princípio da infalibilidade microbiana*”, proposto pelo microbiologista do solo, Martin Alexander, na década de 70, enquanto os xenobióticos nem sempre seriam. No entanto, existem várias substâncias naturais recalcitrantes (resistentes ao ataque microbiano), enquanto alguns xenobióticos que eram considerados indestrutíveis por processos biológicos, tiveram sua biodegradação documentada e elucidada.

6.4.1. As transformações

As transformações sofridas pelos xenobióticos no solo sob influência dos microrganismos vão da simples remoção de um único átomo da molécula orgânica, o que pode mudar muito seu comportamento, à sua mineralização completa (Bollag, 1974). Isso resulta de reações bioquímicas diversas que envolvem destoxicação, degradação propriamente dita, mineralização, conjugação, ativação e mudança de espectro de toxicidade do xenobiótico, processos esses definidos a seguir:

a) destoxificação – é a conversão de uma molécula tóxica a um metabólito ou produto menos tóxico ou atóxico. Isso ocorre, por exemplo, na degradação do DDT que, após sofrer uma desidrogenação, transforma-se em DDE + HCl, sendo o DDE uma molécula atóxica;

b) degradação – é um processo de alteração na estrutura química mediado por microrganismos, plantas ou enzimas, transformando uma substância tóxica em outra mais simples, mas não necessariamente

menos tóxica. Em muitos casos, os produtos de transformação são tão tóxicos quanto o original, não ocorrendo a destoxificação. Entretanto, para alguns especialistas, a degradação corresponde à perda de atividade ou desaparecimento do xenobiótico. Deve-se considerar que é comum a degradação abiótica, existindo vários processos de degradação:

b₁) fotoquímicos: quando ocorre quebra da molécula pela absorção de luz solar. Depende da estrutura química e da sensibilidade do composto à exposição à luz solar;

b₂) microbianos: degradação mediada pelos microrganismos, também chamada biodegradação ou degradação biótica. É muito complexa, influenciada por inúmeros fatores e será abordada com mais detalhes;

b₃) químicos: alteração química envolvendo reações de hidrólise ou de oxidorredução. É uma transformação abiótica, controlada essencialmente pelos fatores ambientais;

b₄) metabólicos: transformação química após a absorção pelas plantas ou animais. A molécula precisa ser absorvida pelo organismo. Geralmente, apenas moléculas pequenas e solúveis sofrem tal tipo de transformação.

c) mineralização – É a degradação completa da molécula a formas inorgânicas como CO₂, H₂O, NH₃, Cl⁻, PO₄⁻³, SO₄⁻², Br⁻ e outros. É freqüentemente considerada sinônimo de biodegradação, porém bioquimicamente são processos distintos, pois a biodegradação não necessariamente inclui a mineralização;

d) conjugação – Quando o produto se torna mais complexo pela adição de metabólitos microbianos ou outros materiais do solo, como substâncias húmicas e argilas, tornando-se geralmente menos tóxico e mais recalcitrante;

e) ativação – É a conversão biótica de produto não tóxico em outro tóxico com ação biocida;

f) mudança de espectro de toxicidade – Quando um produto tóxico para um grupo de organismos-alvo, sofre transformações, gerando substâncias tóxicas para outros organismos diferentes.

A grande diversidade de substâncias químicas que atingem o solo e também a diversidade microbiana em forma e função (catabólica, neste caso) faz da biodegradação dos xenobióticos um assunto de vanguarda e interesse multidisciplinar. Devido ao enorme volume de informações e da peculiaridade da relação produto-biota-ambiente, é difícil abordar o tema com precisão. Por isso, serão tratados aqui apenas alguns aspectos conceituais imprescindíveis para um entendimento mínimo desse grande serviço prestado pela comunidade microbiana do solo, que é contribuir para evitar a contaminação do ambiente. Como conceitualizado na **figura 6.9**, os microrganismos, através da produção de enzimas extracelulares, co-metabolismo ou catabolismo, transformam os xenobióticos em metabólitos diversos, utilizados como substrato pelo próprio microrganismo que promoveu aquela transformação, ou por outros, no caso de co-metabolismo, ou ainda atacado por enzimas extracelulares de origens diversas. No uso como substrato pelo microrganismo, novas células (biomassa) são produzidas, ocorrendo a

mineralização do xenobiótico. Metabólitos residuais da transformação inicial podem permanecer no reservatório de carbono do solo, assim como nos novos organismos ou células, quando estes completarem seu ciclo.

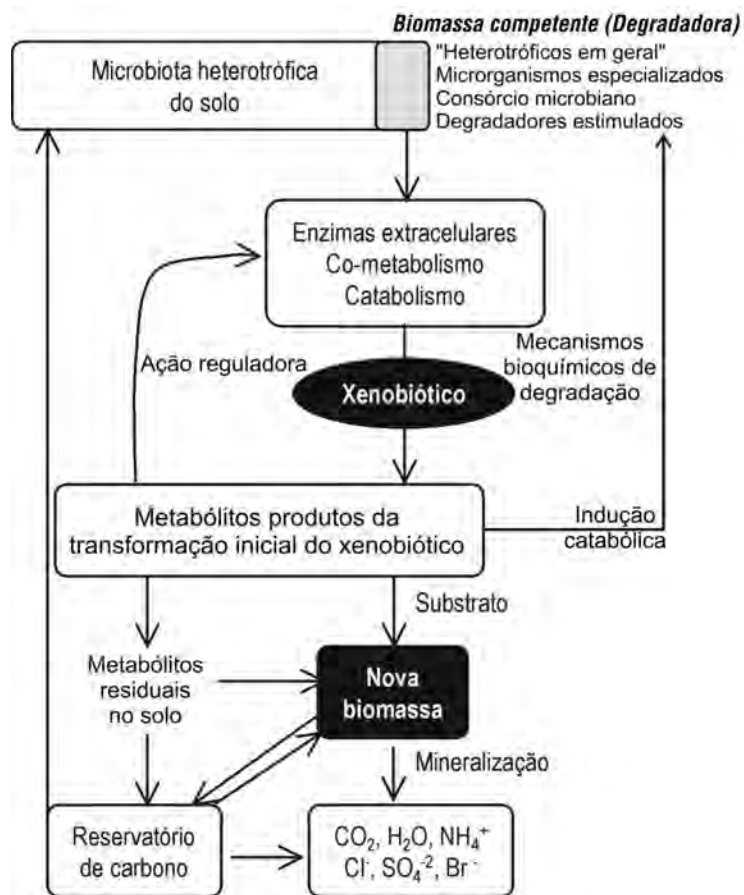


Figura 6.9. Atividade da biomassa em relação à transformação de xenobióticos no solo.

Como visto no capítulo 4, somente parte da biomassa do solo é ativa, e apenas parte da biomassa ativa é competente para a degradação de determinada substância (Figura 6.9). Além disso, deve-se considerar que o processo de degradação é, muitas vezes, executado por um consórcio microbiano e não por uma colônia ou população única, o que exige interações controladas e equilibradas entre os parceiros daquela função, executada por uma comunidade degradadora. Existem ainda situações em que os organismos degradadores precisam ser selecionados ou sofrer indução catabólica (Figura 4.3) que os capacite a utilizar ou transformar o substrato disponível, fato esse que, mui-

tas vezes, só ocorre após repetidas aplicações de determinado produto no solo, como comentado mais adiante neste capítulo.

A transformação bioquímica dos xenobióticos resulta de reações enzimáticas oxidativas, redutivas e hidrolíticas envolvendo diversos mecanismos como:

- diretamente no metabolismo celular central para moléculas com massa molar menor que 600, através das quais os microrganismos obtêm energia e carbono para o crescimento (catabolismo);
- transformações catalisadas por enzimas extracelulares que geram metabólitos com estrutura química mais simples e facilmente metabolizadas;
- de transformações incidentais de processos metabólicos periféricos chamados “co-metabolismo”.

A distinção básica entre processos metabólicos e co-metabólicos em relação à degradação é ilustrada na **figura 6.10**. No co-metabolismo, a transformação é feita por um único microrganismo que não ganha energia ou nenhum benefício dessa transformação para o seu crescimento; ao contrário, este afeta negativamente a célula por ser um uso improdutivo de co-fatores reduzidos como o NADH ou por produzir metabólitos para competidores. Co-metabolismo é um metabolismo não programado que acontece por acaso por enzimas com pouca especificidade de substrato como as oxigenases, gerando produtos sem seqüência no processo biodegradativo. Por exemplo, na degradação dos bifenil-clorados (PCBs), a ação da bifenildioxigenase produz ácido 4-clorobenzóico e um ácido alifático clorado que não são assimilados biologicamente pelo microrganismo, ou seja, não são precursores do ciclo dos ácidos tricarbóxicos, e assim não resultam em geração de energia. Ao contrário desse composto, o bifenil não clorado produzido da hidrólise enzimática gera ácido benzóico e ácidos alifáticos sem cloro facilmente assimilados no ciclo dos ácidos carboxílicos, servindo como substrato metabólico.

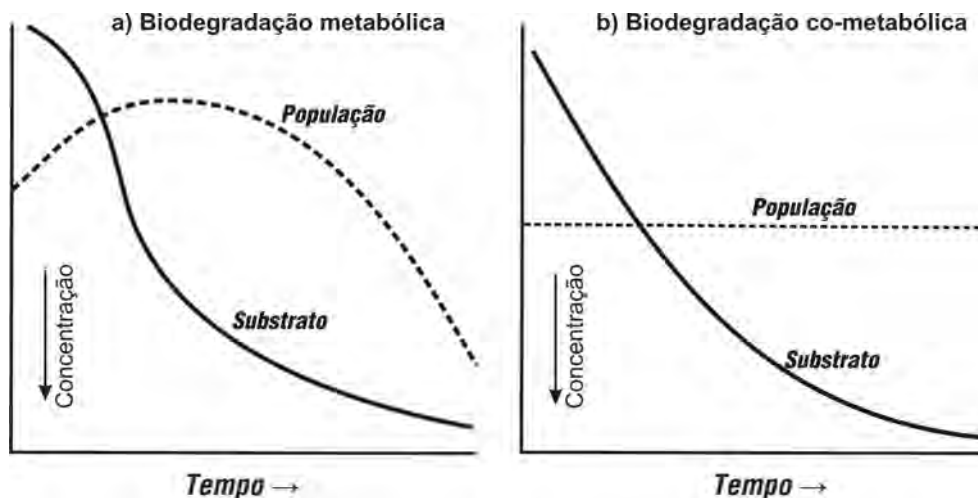


Figura 6.10. Relações entre o crescimento microbiano e a concentração do substrato em populações degradadoras por processos metabólicos (a) e por co-metabolismo (b).

Como no co-metabolismo o composto não serve como nutriente ou fonte de energia, a população co-metabolizante degrada o substrato, mas não responde em crescimento, ao contrário daquela metabolizadora (Figura 6.10). Populações co-metabolizantes precisam de fonte extra de carbono para sustentar seu crescimento e para usar esses compostos como substrato, os microrganismos, primeiramente, removem grupos que bloqueiam o metabolismo como os halogênios, com frequência presentes em moléculas xenobióticas. Apesar de não sustentar o crescimento microbiano, o co-metabolismo é de grande importância nas biotransformações dos xenobióticos, sendo responsável por processos importantes como:

a) transformações incidentais por ação de enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos e liberadas no solo. Isso explica, muitas vezes, o desaparecimento do composto sem a presença de microrganismos biologicamente ativos;

b) conjugação da molécula xenobiótica ou metabólito dela derivado, com compostos do metabolismo intermediário ou ainda condensação com substâncias de ocorrência natural, formando novas substâncias com bioatividade diferenciada e, às vezes, complexas. Estas são também chamadas reações endogênicas e produzem conjugados de xenobióticos, geralmente mais resistentes à decomposição. Os reagentes endógenos são aminoácidos e agentes de alquilação e acetilação, que combinam com a molécula estranha;

c) condensação e polimerização. Vários organismos promovem esses processos, geralmente mediados pelas peroxidases e lacases, ocorrendo formação de azobenzenos substituídos, e a polimerização de pesticidas com derivados de compostos aromáticos, que adquirem conformação química semelhante ao húmus.

Os vários processos oxidativos, redutivos, hidrolíticos e sintéticos e as reações catalisadas direta ou indiretamente pelos microrganismos e que determinam os processos da biodegradação química dos xenobióticos, encontram-se resumidas na **tabela 6.6**. Essas reações garantem as rotas de degradação, geralmente muito complexas e variáveis em função dos decompositores ou as condições diferentes, assim como os metabólitos formados podem diferir entre as rotas e condições ambientais. Estas podem ainda abranger vários microrganismos isoladamente ou em cadeia trófica, com mecanismos distintos, que envolvem reações primárias e secundárias da degradação enzimática de diferentes substâncias. Exemplos de reações primárias e subsequente envolvimento na degradação de alguns pesticidas encontram-se na **tabela 6.7** e algumas rotas de degradação são apresentadas ainda neste capítulo. Portanto, é muito evidente a diversidade de mecanismos bioquímicos envolvidos na biodegradação dos xenobióticos, o que contribui para que esse processo seja a via principal de destoxificação e desaparecimento dos xenobióticos no solo, embora essa contribuição possa variar muito para diferentes substâncias. Por exemplo, enquanto se considera que apenas menos de 20% da degradação do DDT ocorre biologicamente, mais de 80% do desaparecimento da atrazina no solo ocorrem por esse processo. Esses comportamentos diferenciados têm razões evolucionárias da relação entre o composto químico ativo e a microbiota do solo.

Tabela 6.6. Tipo de processos, enzimas e reações envolvidas na degradação dos pesticidas

Tipo de Processo / Principais enzimas	Reações químicas	Exemplos de compostos
Processos oxidativos: (Principais enzimas: monoxigenases, dioxigenases, lacases e peroxidases).	Hidroilação de C; β -oxidação; Epoxidação; Formação de cetona; Rompimento C=C; Desidrogenação do C; Oxidação de N Demetilação de N; Oxidação de S; Substituição de O por S; Rompimento de éter; Mineralização.	Carbofurano e aromático; Ácidos fenoxi-alcanóicos; Ciclodienos; Carbofurano; Aromáticos; Lindane; Anilinas; Fenilureias; Pesticidas sulfurados; Organofosforados; Ácidos fenoxi-alcanóicos; Quase todos os orgânicos.
Processos redutivos: (Anaerobiose).	Redução de C, N e S.	Alquenos, alquinos, compostos; Nitrogenados, sulfóxidos e Dissulfóxidos.
Processos hidrolíticos: (Enzimas hidrolíticas).	Hidrólise de ésteres; Hidrólise de carbamatos; Hidrólise de epóxidos.	Ésteres carboxílicos e sulfatos; Carbamatos; Dieldrin.
Processos sintéticos.	Conjugação; Reação com húmus; Reação com pesticidas.	Butachlor, diclorofenol; Fenóis em geral; Anilinas cloradas com fenólicos.

6.4.2. A biodegradação

A biodegradação foi primeiramente demonstrada para o herbicida 2,4-D, sendo a rota degradativa e os mecanismos atualmente bem conhecidos. Essa substância, quando atacada por *Alcaligenes eutrophus* JMP 134, que possui o plasmídeo degradador pJP4, transforma-se, inicialmente, em ácido glioilico e 2,4 diclorofenol pela enzima dioxigenase e, daí, por várias reações que rompem o anel aromático, as quais, combinadas, convertem o composto derivado a succinato e acetil-CoA (**Figura 6.11**) para produção de energia e novas células microbianas. Nesse caso, ocorre a mineralização do composto, com a liberação de CO₂, caracterizando a natureza catabólica do processo. As principais reações envolvidas constam de quebra de ligação etérica, desalogenação, oxidação do núcleo aromático e β -oxidação, todas

Tabela 6.7. Exemplos de transformações enzimáticas primárias e subseqüentes da degradação de pesticidas (Bollag, 1974)

Pesticida	Transformações enzimáticas		Persistência no solo
	Reações primárias	Subseqüentes	
Dalapon	Desalogenação.	-	2 a 8 semanas
Simazina	Desalquilação e desalogenação.	Desaminação.	18 meses
2,4-D	β -oxidação, rompimento da ligação etérica, hidroxilação do anel.	Hidroxilação e quebra do anel	4 a 18 semanas
Linuron	Desalquilação e hidrólise.	Hidrólise, acetilação e reação de condensação.	4 a 15 meses
Fenilcarbamato (CIPC)	Hidrólise da ligação éster.	Hidroxilação e quebra do anel.	7 semanas
Ácido benzóico	Descarboxilação e desalogenação.	-	6 semanas
Diazinon (Organofosforado)	Hidrólise.	Quebra do anel.	9 dias
Heptacloro	Epoxidação e desalogenação.	Hidrólise.	79 anos
Carbamatos (Temik)	Sufoxidação.	Hidrólise.	2 a 3 semanas

catalisadas por enzimas que estão sob o controle de genes encontrados no plasmídeo pJP4 e no cromossoma no caso da redutase. O plasmídeo pJP4 pode ser transferido para outras bactérias, incluindo *Rhizobium* sp., obtendo-se microrganismos geneticamente modificados capazes de degradar o herbicida. Rotas como essa, envolvendo diversas reações enzimáticas em seqüência, ocorre na biodegradação de outros compostos no solo.

Microrganismos decompositores de xenobióticos são, em geral, bactérias pertencentes a vários gêneros, e também fungos e clorófitas. Portanto, tanto eucariotos quanto procariotos degradam os pesticidas. Representantes principais de gêneros de Eubacteria (Procariotos) e respectivas características são listados a seguir com alguns exemplos:

- a) bactérias gram-negativas, aeróbias/microaerofílica fixadoras de N_2 atmosférico: *Azospirillum* e *Hafnia*;
 b) bastonetes gram-negativos, aeróbios: *Pseudomonas* (inúmeras espécies) e *Xanthomonas*,
Alcaligenes, *Paracoccus*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* e *Flavobacterium*;
 c) bastonetes gram-negativos, anaeróbio facultativo: *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*;
 d) bastonetes e Coccus gram-positivos esporulantes: *Micrococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*;
 e) outros gram-positivos não esporulantes: *Arthobacter* e *Nocardia*.

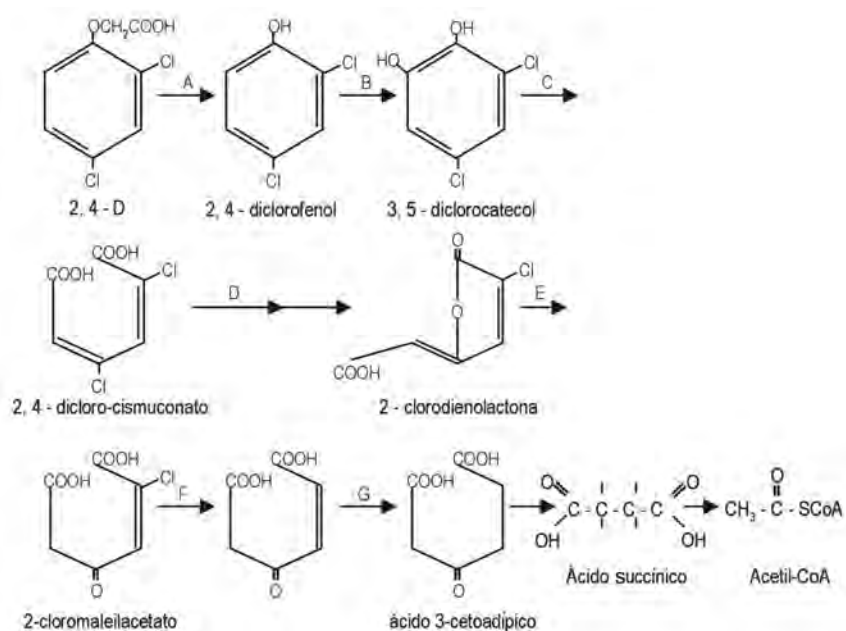


Figura 6.11. Rota de degradação do herbicida 2,4 D pelo *Alcaligenes eutrophus* JMP 134 (PJP4). Enzimas: A – dioxygenase; B – monooxygenase; C – dioxygenase que rompe anel; D – cloromuconato cicloisomerase; E – lactose isomerase; F – hidrolise; G – cloromaleicoacético ácido redutase.

Representantes de Eucariotos (aeróbios e heterotróficos), degradadores de xenobióticos apresentam ampla diversidade morfológica, fisiológica e metabólica. Exemplos de gêneros são: *Mucor*, *Rhizopus*, *Neurospora*, *Fusarium*, *Glomerella*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia*, *Trametes* e *Phanerochaete*. Nas clorófitas, espécies do gênero *Chlorella* são degradadoras e alguns protozoários podem modificar essas substâncias, mas não as usam como substrato. As plantas também são capazes de degradar inúmeras substâncias orgânicas.

Por ser a biodegradação o principal processo do desaparecimento da maioria dos xenobióticos no solo, uma das maneiras de avaliá-la é a aplicação do produto marcado com ^{14}C , que é liberado na degradação da molécula como $^{14}CO_2$ que é quantificado. Na **figura 6.12** tem-se a quantidade de $^{14}CO_2$ liberada pela degradação de vários pesticidas em dois solos agrícolas da região de Piracicaba (SP).

Observa-se o comportamento diferenciado quanto à degradabilidade dos produtos estudados e também a influência do tipo de solo na intensidade do processo. Enquanto os piretróides (Permetrina e Deltametrina) foram rapidamente biodegradados no solo arenoso, isso não ocorreu com outros produtos estudados, alguns apresentando degradação muito baixa. Esses resultados evidenciam a importância da interação solo-produto na degradação dos xenobióticos e a dificuldade de fazer generalizações sobre a taxa de degradação. Como apresentado nos tópicos subseqüentes, isso é consequência de fatores ambientais, da química do produto e das populações degradadoras.

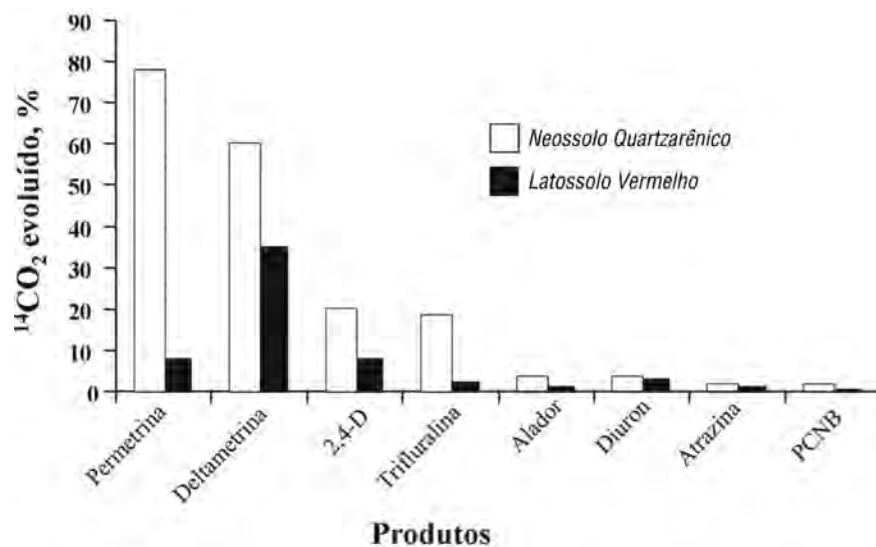


Figura 6.12. Biodegradação de diferentes pesticidas em dois solos agrícolas da região de Piracicaba (SP) após 28 dias de incubação. (Monteiro, 1997.)

Apesar da ampla capacidade dos microrganismos de degradar os xenobióticos, muitos desses compostos são recalcitrantes, isto é, resistem à decomposição no solo ou apresentam taxa de decomposição muito lenta. Incluem inúmeros compostos cloroaromáticos de vários tipos, como bifenil-clorados e inseticidas organoclorados; embora proibidos na maioria dos países, inclusive no Brasil, continuam em uso, e também os herbicidas diquat e paraquat e, mais recentemente, a atrazina. Entretanto, embora seja mais comum entre os xenobióticos, sabe-se que várias substâncias naturais são também recalcitrantes como a clorofila. O fenômeno de recalcitrância, ou baixa degradabilidade no solo, é complexo e determinado pelos seguintes aspectos:

a) características estruturais do composto, tais como a quantidade de substituição e a natureza dos grupos introduzidos no núcleo central da molécula;

- b) desativação de sistemas enzimáticos responsáveis pelas alterações na molécula do produto no solo;
- c) inacessibilidade do substrato às enzimas ou às células microbianas capazes de promover sua degradação;
- d) ausência de fatores de crescimento ou condições desfavoráveis para os microrganismos decompositores;
- e) ausência de microrganismo(s) com capacidade metabólica, com gene e enzimas específicas, capazes de transformar o produto.

Para melhor entendimento da biodegradação, aspectos específicos de alguns grupos são abordados a seguir.

Carbamatos

Os carbamatos constituem um grupo de pesticidas que merecem destaque especial, pois apesar de ocorrerem naturalmente, como a figostigmina, por exemplo, que é uma neurotoxina letal extraída de sementes da planta *Physotigma venenosum*, são biocidas de largo espectro e amplamente empregados como nematicidas e inseticidas. Dois princípios ativos desse grupo, muito comercializados, são o aldicarbe (Temik) e o carbaril (Sevin). O aldicarbe tem alta toxicidade para os animais ($LD_{50} = 1 \text{ mg kg}^{-1}$ peso vivo) e apresenta alta lixiviabilidade no solo, podendo degradar-se rapidamente por oxidação microbiana a sulfóxido e sulfonas de aldicarbe (**Figura 6.13**), mas a transformação desses metabólitos para compostos não-carbamatos (oximas e nitrilas) ocorre predominantemente por hidrólise química abiótica.

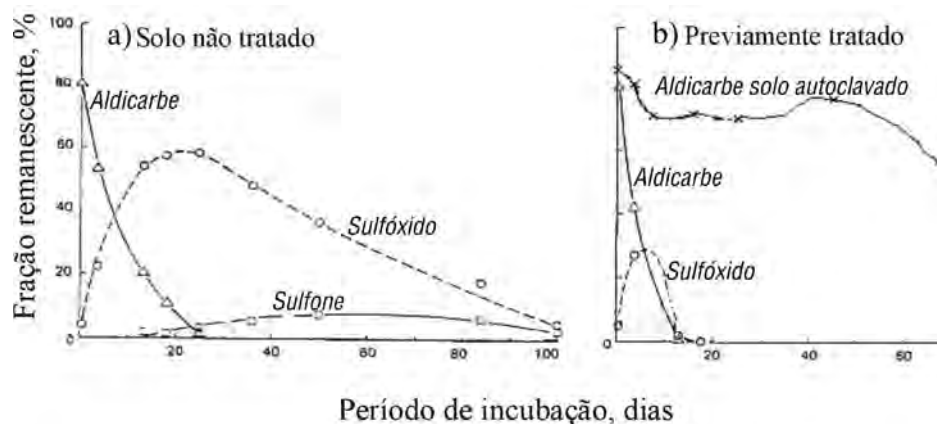


Figura 6.13. Desaparecimento do aldicarbe e formação e degradação de seus produtos de oxidação em solo nunca tratado e previamente tratado com o produto. (Smelt et al., 1987.)

A decomposição do aldicarbe em solos tropicais atinge valores acima de 50%, após 26 dias da aplicação (Piffer & Rigitano, 1991), mas por apresentar baixo coeficiente de partição, tem grande mobilidade e oferece grande risco de contaminação dos mananciais hídricos. Apesar de não ser completamente entendida, a degradação do aldicarbe é realizada por várias bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, espécies dos gêneros *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Arthrobacter*, e espécies fúngicas de *Fusarium* e *Penicillium*, que degradam com facilidade esse produto no solo. Vários fungos usam carbamatos como fonte de carbono, sendo assim estimulados em concentrações até de 2 g kg⁻¹ e inibidos em concentrações acima de 5 g kg⁻¹. Naquelas normalmente empregadas em campo, não há evidências de toxicidade para bactérias e actinomicetos. Sabe-se também que os degradadores de aldicarbe são inativos em baixo pH, menor que 5,8 (Lightfoot et al., 1987) onde a dissipação ocorrerá por processos abióticos, portanto um aspecto interessante para nossas condições de solo.

A biodegradação acelerada do aldicarbe é bem documentada no caso de solos europeus e norte-americanos, onde a degradação é predominantemente biológica, produzindo rapidamente grande quantidade de sulfóxido e alguma produção de sulfone em solo sem degradação acelerada (Figura 6.13a). Naqueles onde há degradação acelerada, o desaparecimento do aldicarbe é mais rápido, o metabólito sulfóxido é rapidamente consumido e o sulfone não é detectado no solo (Figura 6.13b). Entretanto, em estudos desenvolvidos na Universidade Federal de Lavras, não se encontraram evidências para a biodegradação acelerada do produto, em solos altamente intemperizados cultivados com cafeeiros na região dos cerrados no Brasil. Como apresentado na **figura 6.14**, a degradação do aldicarbe seguiu cinética de primeira ordem com meia vida igual a 7,5 dias no solo sob mata nativa e 22,9 dias no cultivado com cafeeiros tratados previamente com Temik-150 por 5 anos. A degradação, portanto, foi mais lenta no solo com aplicação sucessiva do aldicarbe indicando não haver indução da degradação desse “inseticida-nematicida” nos solos sob cafeeiro nestas condições. A degradação mais intensa no solo de mata é atribuída por Rigitano et al. (2001) à maior taxa de hidrólise química do composto naquele solo. As razões para esse comportamento não são claras, mas parecem não resultar de diferenças na atividade biológica do solo, considerando que as reações hidrolíticas do aldicarbe podem ocorrer sem mediação microbiana. Como visto na figura 6.13, a adaptação da população microbiana nos solos da Europa é para degradação dos metabólitos sulfóxido e sulfone de aldicarbe, metabólitos esses que não têm sido detectados na degradação do composto nos solos brasileiros. Isso indica que a rápida degradação do aldicarbe nestes solos parece não ser resultante da biodegradação acelerada e, sim, da hidrólise química (Rigitano et al., 2001).

Devido ao alto potencial de risco de contaminação, é importante que haja rápida degradação do composto no solo e o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos, sejam eles bióticos ou abióticos, reveste-se da maior importância. Em razão disso, várias formulações de culturas microbianas capazes de promover a decomposição do produto no solo têm sido desenvolvidas e comercializadas para a destoxificação de solos contaminados com aldicarbe. Um dos produtos é o agente destoxicante Oxybac™ produzido pela BioBasic Inc., Catoosa, Oklahoma (EUA). No entanto, ao contrário do que é preconizado pelo fabricante, esse produto se mostrou pouco eficaz em aumentar a biodegradação do aldicarbe em solos do Texas (EUA) contaminados pelo pesticida.

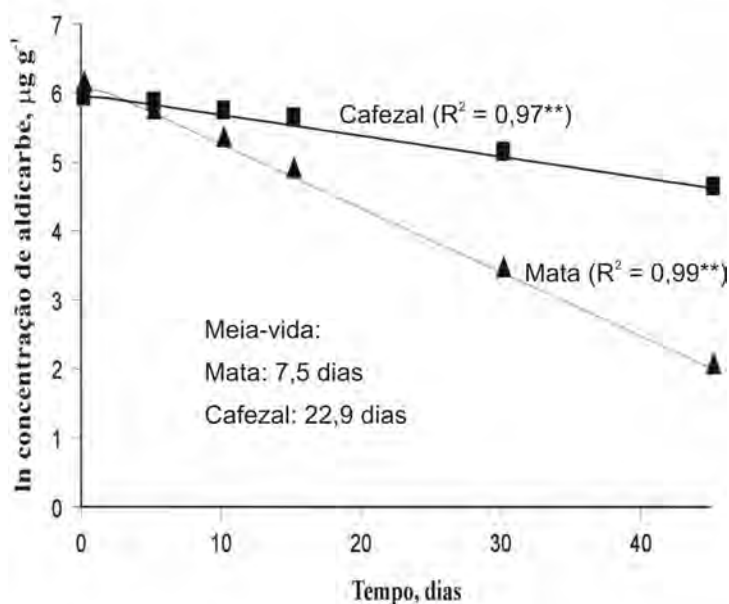


Figura 6.14. Concentração de Aldicarbe em Latossolo Vermelho-Amarelo sob cultura do cafeeiro e vegetação de mata. Dose aplicada: 400 µg g⁻¹ de solo. (Rigitano et al., 2001.)

Atrazina

A atrazina é outro pesticida que tem sido amplamente estudado quanto à degradação no solo. Seu princípio ativo é empregado como herbicida desde os anos 50, tornando-se o mais usado no mundo. Para atender à demanda de seu mercado, alcançou produção anual de mais de 40 milhões de toneladas na década de 90. Em várias regiões de países desenvolvidos, tem sido motivo de preocupação por sua ação contaminadora do solo e da água, onde atinge valores maiores que 1.000 µg kg⁻¹ de solo e 16 µg L⁻¹ de águas de superfície e até 1.500 µg L⁻¹ em águas subterrâneas, níveis esses muito superiores ao permitido para água potável, que é de 3 µg L⁻¹ (Struthers et al., 1998). É um dos pesticidas causadores de maior impacto ecológico e ambiental, por apresentar diversas rotas de contaminação via solo, água e alimentos. Recentemente, foi detectado ser responsável pela reversão de sexo em anfíbios e, por esse e outros impactos, está sendo banido em vários países.

A degradação da atrazina é predominantemente biológica, ocorrendo por descloração, desalquilação e posterior quebra do anel (**Figura 6.15**). Isso é feito por vários microrganismos como *Agrobacterium* e *Klebsiella* por metabolismo oxidativo e por *Rhodococcus*, através de co-metabolismo. Como já comentado, a aplicação freqüente seleciona no solo microrganismos com elevada capacidade de degradação. *Agrobacterium radiobacter* (J14a), isolado de campos de milho em Nebraska (EUA), mineralizou mais de 90% da atrazina em 12 horas em meio de cultura. Essa bactéria produz constitutivamente as enzimas

intracelulares responsáveis pela degradação do produto que ocorre da seguinte maneira: as monoxigenases removem os radicais etil e isopropil laterais, que servem de fonte de C para obter energia, enquanto da quebra dos anéis e desaminação por hidrolases obtém-se o N. As estirpes com o plasmídeo J14a promovem, simultaneamente, a desalquilação de N e a descloração do núcleo aromático, gerando dois metabólitos (HA e DEA), que são convertidos a DEHA na seqüência da degradação. Esse processo é diferente nessa estirpe em relação a outros microrganismos, pois remove o radical etil da cadeia lateral, produzindo os metabólitos HA, DEA e DEHA, enquanto os outros removem o isopropil e produzem outros metabólitos como DIA e DIAHA.

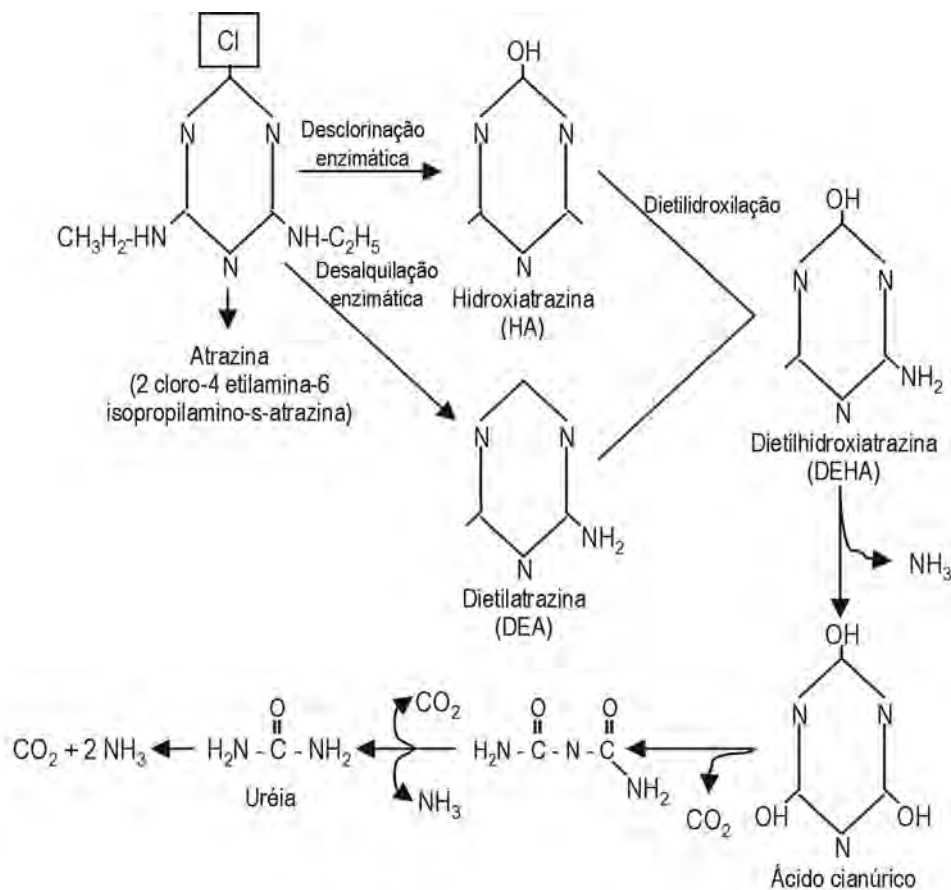


Figura 6.15. Rota metabólica da degradação da atrazina no solo por *Agrobacterium radiobater* (J14a). (Struthers et al., 1998.)

A velocidade com que o processo de degradação ocorre tem relação com a microbiota do solo. Struthers et al. (1998) encontraram apenas 420 células de biodegradadores g^{-1} de um solo agrícola, no qual a decomposição do herbicida foi apenas de 5%, enquanto em outro solo, cuja a taxa de decomposição foi de 50%, havia 1.400 células g^{-1} de solo. Assim, a biodegradação depende das peculiaridades das rotas e de diferenças na densidade de populações degradadoras. Tais diferenças de atividades são importantes no contexto da biodegradação, na eficácia do produto no campo e quando se pretende fazer a biorremediação de áreas contaminadas com o herbicida.

Glifosato

O glifosato foi desenvolvido como derivado da glicina nos anos 70 nos EUA, quando foi registrado como Roundup®. Seu uso representa, em algumas culturas, 90% da demanda total de pesticidas. Destaca-se por ser um dos pesticidas mais consumidos no mundo devido a sua ação herbicida de amplo espectro, sendo um dissecante largamente empregado em áreas sob plantio direto nos cultivos empregando variedades geneticamente modificadas (GM), que expressam genes para tolerância a esse princípio ativo. Essas variedades contêm o gene exógeno *epsps*, que codifica para a enzima EPSPS (5-enol-piruvil-shiquinato-3-fosfato sintase), que regula a síntese de aminoácidos aromáticos, tornando essas variedades insensíveis ao glifosato. É interessante o fato de que o gene clonado para a resistência foi obtido de *Agrobacterium* sp. CP4, uma bactéria comum no solo e na rizosfera. Outros genes usados na clonagem para tolerância a herbicidas são isolados de *Streptomyces* sp. ou mesmo de plantas tolerantes a esse herbicida. Atualmente, cerca de 45 milhões de hectares são cultivados com soja, milho, canola e algodão tolerantes ao Roundup®. Isso significa grande quantidade do produto depositado no solo, despertando muita preocupação (Siqueira & Trannin, 2004). No Brasil, o consumo de herbicidas à base de glifosato aumentou mais de 20% nos últimos anos, devido à expansão da área de plantio direto, e deverá aumentar muito mais com a liberação comercial de variedades transgênicas para cultivo. No entanto, enquanto o uso de glifosato aumenta com a adoção dos cultivos transgênicos, o de outros herbicidas mais persistentes e tóxicos, como o imazetapir, metolachlor e trifluralina com meia vida superior a 90 dias, diminui.

A persistência do glifosato no solo pode variar bastante em função das condições ambientais, mas, na maioria das situações, a degradação desse composto é muito rápida, podendo atingir 4% ao dia, dependendo do pH do solo e da densidade de microrganismos degradadores como *Pseudomonas* spp. O pH baixo favorece a adsorção ao solo, o que pode atingir 8,8 mmol kg^{-1} de solo, reduzindo a biodisponibilidade do composto aos heterotróficos. O glifosato, por ser um composto orgânico dipolar, apresenta, nas condições de solos tropicais intemperizados, rápida e alta taxa de adsorção, resultando em baixa concentração na solução do solo. A meia-vida deste produto nos solos brasileiros é muito baixa, geralmente de 10 a 20 dias, contribuindo para diminuir os riscos de uso generalizado de herbicidas à base desse princípio ativo.

A degradação do glifosato no solo é rápida e realizada por uma vasta variedade de microrganismos que o utilizam como fonte de fósforo e de energia por meio de duas rotas catabólicas mostradas na **figura 6.16**, tendo como rota principal a quebra de ligação seguida de hidrólise, que libera fosfato e produz o AMPA, principal metabólito encontrado no solo. Alternativamente, pode ser atacado por C-P liases,

liberando também fosfato inorgânico com a produção de sarcosina, que é oxidada a glicina. A degradação segue o modelo clássico entre o desaparecimento do produto e o correspondente aumento no tempo do crescimento de bactérias degradadoras. Inicialmente, há uma tendência de acúmulo do AMPA em culturas de bactérias que usam o glifosato como substrato, mas essa é uma tendência temporária, pois as populações se adaptam rapidamente na utilização desse metabólito, evitando sua concentração no meio ou no solo. Em culturas de *Flavobacterium*, verificou-se que o AMPA é também utilizado como fonte de P e que essas bactérias respondem muito bem à presença do glifosato, sendo capazes de usá-lo como substrato (**Figura 6.17**). Outro aspecto interessante é a capacidade de adaptação dos microrganismos a esse produto. Adaptam-se a concentrações mais elevadas de glifosato, tornando-se insensíveis ao produto e, além disso, há grande variação na tolerância dos microrganismos à sua exposição, cujo modo de ação no metabolismo microbiano é o bloqueio de rotas da síntese de aminoácidos aromáticos. A adaptação ou tolerância diferencial ao glifosato por bactérias relaciona-se à expressão e atividade da enzima EPSPS nelas. Portanto, além de o produto ser de baixa toxicidade, é rapidamente biodegradado, diminuindo sua exposição ambiental e, conseqüentemente, os riscos. Estudos em solos brasileiros indicam ausência de impactos do produto em bactérias, fungos, actinomicetos e atividade heterotrófica do solo, assim como não haver acúmulo significativo de glifosato ou AMPA, mesmo após anos de aplicação (Araújo et al., 2003).

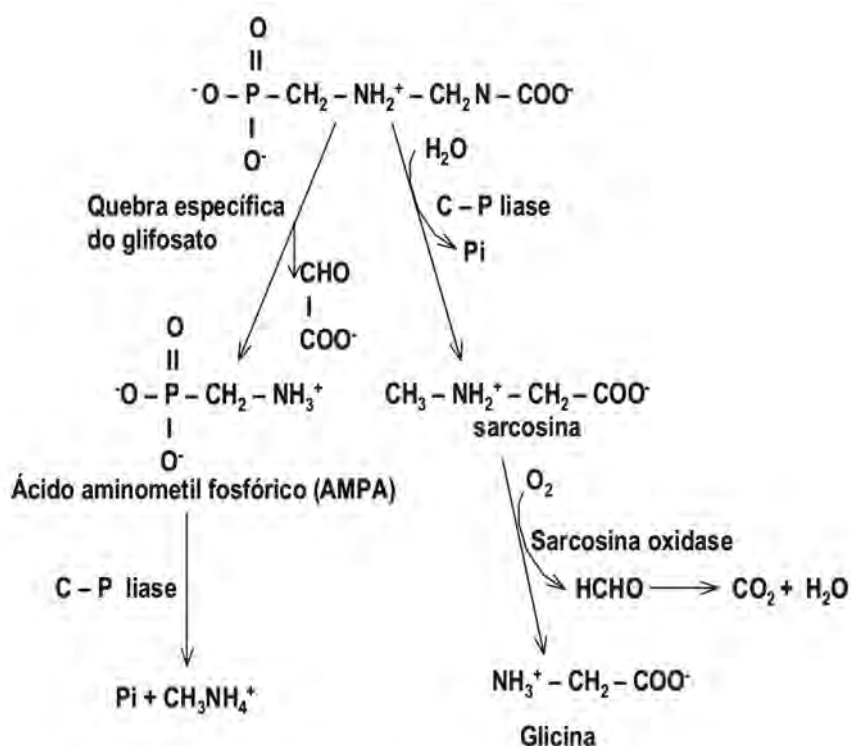


Figura 6.16. Rotas de degradação do glifosato por bactérias do solo, com produção dos metabólitos AMPA e sarcosina. (Liu et al., 1991.)

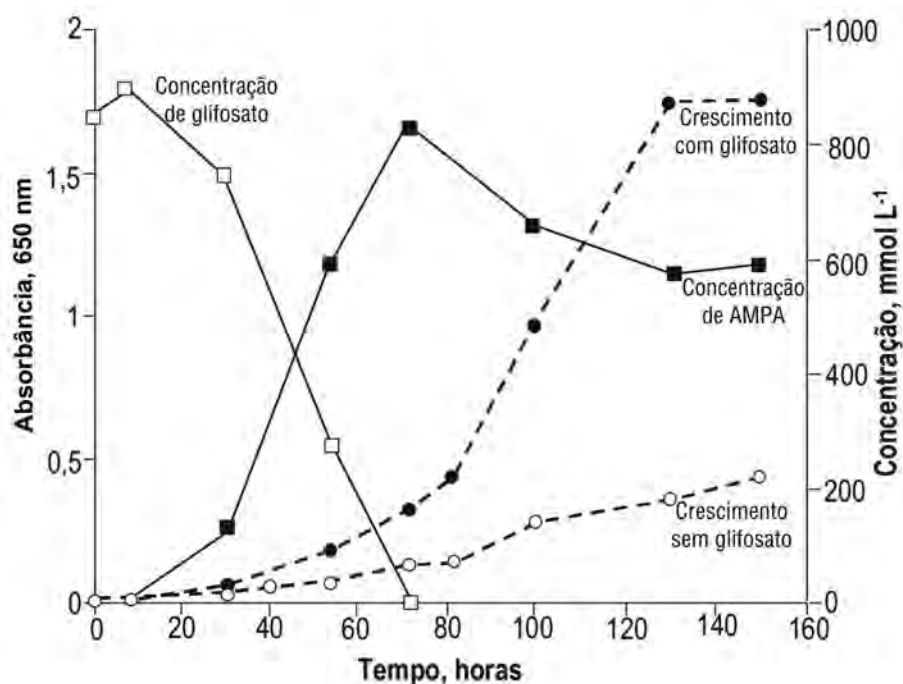


Figura 6.17. Efeito de glifosato no crescimento de *Flavobacterium* sp. e concentrações de glifosato e do metabólito AMPA. (Balthazor & Hallas, 1986.)

Compostos organo-halogenados

O outro grupo de compostos abordado de modo diferenciado neste texto, é representado pelos halogenados e organoclorados cuja produção é crescente e os problemas de contaminação cada vez mais freqüentes (Adriano et al., 1999). A desalogenação é o primeiro passo para a degradação desses compostos, podendo ser oxidativa ou redutiva. A descloração respiratória (oxidativa) ocorre em diversos compostos, existindo inúmeras evidências de que o processo é biológico e, através de co-metabolismo de bactérias também metanogênicas redutoras de sulfito e bactérias fermentativas.

Estirpes de várias espécies de bactérias pertencentes a grupos filogenéticos distintos são capazes de usar compostos clorados como aceptores de elétrons, através da descloração respiratória, um mecanismo de grande importância ambiental em solos e sedimentos anóxicos. A desalogenação redutiva de compostos clorados é muito comum entre os pesticidas, ocorrendo, principalmente, nos benzenoclorados e PCBs. Essa transformação consiste na remoção do átomo de halogeno por oxidação-redução conforme esquema apresentado na **figura 6.18**. Em essência, ocorre a transferência de elétrons dos compostos orgânicos reduzidos via microrganismos ou mediador abiótico como Fe e produtos biológicos como NAD,

NADP, flavinas, flavoproteínas, citocromos, glutatona e outras substâncias que recebem os elétrons, transferindo-os para o composto halogenado, que é reduzido em seqüência com a perda do Cl⁻. A desalogenação redutiva ocorre somente em potencial de oxirredução (Eh) \leq 350 mV.

Outro halogenado de grande interesse é o DDT (difenil-dicloro-tricloetano). A degradação do DDT também ocorre por descloração redutiva, convertendo-o a DDD, e, por descloração, a DDE (**Figura 6.19**), metabólito esse considerado, até então, não degradável no ambiente. Entretanto, estudos recentes mostram que o DDE é desclorado redutivamente a DDMU por bactérias metanogênicas e sulfidogênicas, ou seja, em condições anaeróbias ricas em sulfato. São conhecidas estirpes de bactérias capazes de fazer a deshalogenação redutiva nas seguintes espécies: *Desulfomononile tiedjei*, *Desulfitobacterium dehalogenans* (estirpe 2CP-1), *Dehalospirillum multivorans* e *Dehalobacter restrictus*. Essas são anaeróbias que usam como doadoras de elétrons pequenas moléculas como H₂, ácidos alifáticos, etanol ou glicerol, benzoatos e, como fonte de carbono, geralmente CO₂ ou acetato. Segundo Quensen et al. (1998), essas bactérias metanogênicas, que degradam o DDE, também degradam PCBs nas mesmas condições. A degradação do DDE ocorre via oxidação dos grupos alcoólicos terminais, produzindo ácido glioxílico, que vai para piruvato e ciclo dos ácidos tricarbóxicos, sendo completamente oxidado.

Como mencionado no início deste capítulo, inúmeros outros xenobióticos em adição aos pesticidas agrícolas ocorrem no solo, sendo sua biodegradação também de grande interesse. Entre os mais importantes, têm-se os bifenis policlorinados (PCBs), que, por suas inúmeras aplicações comerciais, tiveram a produção elevada nas últimas décadas. Eram considerados não biodegradáveis até há pouco tempo, mas já se sabe que existem inúmeros microrganismos capazes de degradá-los, tanto na presença quanto na

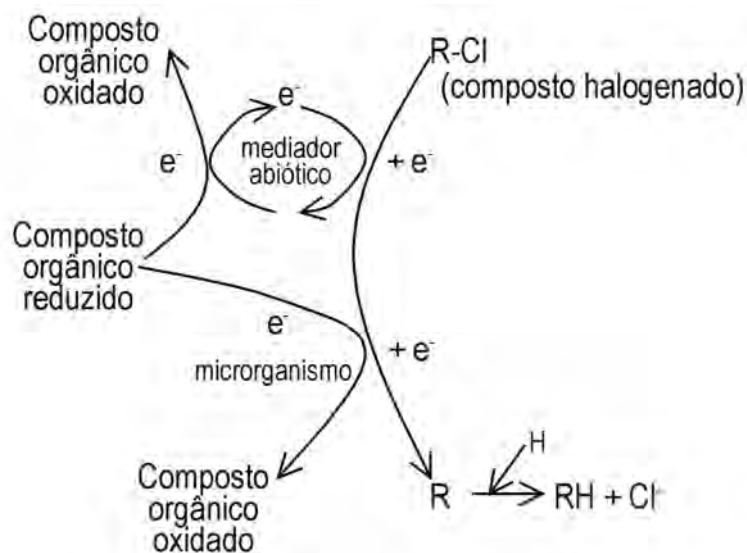


Figura 6.18. Fluxo de elétrons na deshalogenação redutiva de xenobióticos. e^- = cede elétrons; $+e^-$ = recebe elétrons. (Kobayashi & Rittman, 1982.)

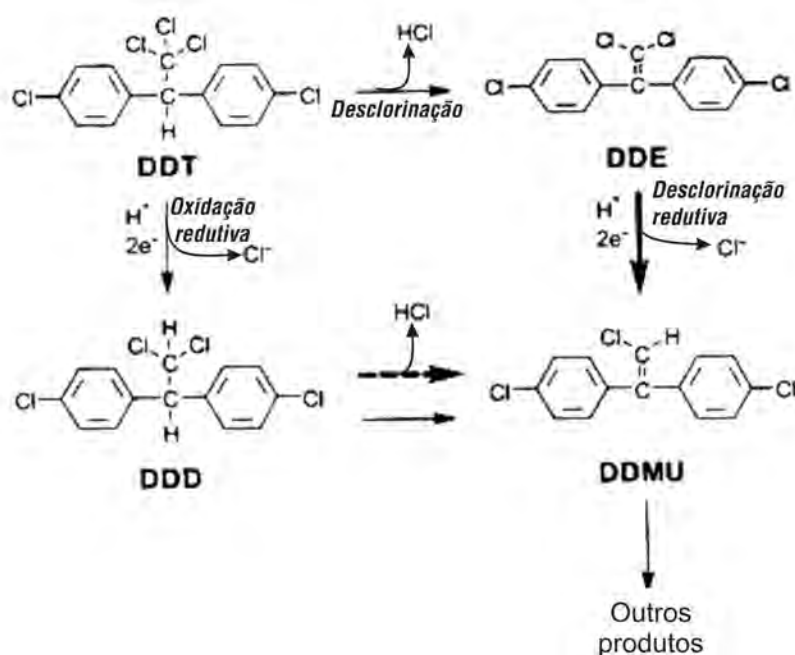


Figura 6.19. Rotas de descloração redutiva do DDT até DDE. (Quensen et al., 1998.)

ausência de oxigênio. Entre as bactérias aeróbias, há representantes dos gêneros *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* e, entre os fungos, destaca-se o *Phanerochaete chrysosporum*. Para a mineralização completa dos PCBs, tem que haver a descloração do anel por bactérias anaeróbias, seguida do seu rompimento pelas aeróbias ou fungos; portanto, envolvendo um consórcio bem diversificado metabolicamente e capaz de degradar essas substâncias.

Os microbiologistas do solo têm também estudado mais recentemente a capacidade dos fungos de produzir naturalmente mais de 1.500 metabólitos organo-halogenados (Jong et al., 1994). Esses autores demonstraram que fungos que degradam madeira e serrapilheira sintetizam, a partir de carboidratos e cloro, metabólitos do tipo anisilclorado (MACs) em quantidade elevada. Isso explica o fato de que serrapilheira de solos florestais contém até 73 mg kg⁻¹ de matéria seca desses compostos. Em condições de cultura, Jong et al. (1994) verificaram que os fungos *Hypholoma capnoides* e *Oudemansiella mucida* produzem mais de 30 mg MACs L⁻¹ de meio e citam que o cogumelo *Lepista muda* contém MACs na base de 0,8 mg kg⁻¹ matéria seca. Esses resultados levantam dois aspectos interessantes: primeiro, é que nem todos os aromáticos clorados são necessariamente xenobióticos, pois podem ter análogos de ocorrência natural e, segundo, é que o próprio metabolismo do solo produz compostos do tipo “organoclorados poluentes”, no caso os MACs. Os produzidos no solo podem ser completamente mineralizados a CO₂ e Cl⁻ ou sofrer transformações bioquímicas a clorofenóis, que também são mineralizados ou transformados pelas fenoloxidasas a polímeros não tóxicos do tipo húmus. Estes seriam mecanismos de

destoxificação dessas substâncias no solo. Eles podem sofrer biotoxificação, produzindo compostos altamente poluentes como dioxinas ou dibenzofuranos. Portanto, os MACs são fontes potenciais naturais de organohalogênios no solo, os quais são perigosos poluentes até então considerados de origem estritamente antrópica. É também bem documentado que ocorrem naturalmente no solo inúmeras toxinas naturais, como no caso de compostos aromáticos (Siqueira et al., 1991b) e nitrogenados, os quais são destoxificados pela ação microbiana.

Outros xenobióticos

Outros produtos sintéticos de grande interesse são os poliésteres, como o PEG (polietileno glicol), que são biodegradados por bactérias encontradas no solo e em lodos ativados. Para vários outros materiais considerados inatacáveis pelos microrganismos, conhecem-se, atualmente, microrganismos capazes de degradá-los. Alguns exemplos são espécies de *Flavobacterium*, capazes de utilizar oligômeros de náilon, *Alcaligenes* e *Pseudomonas* que atacam estireno e *Nocardia*, que degrada borracha vulcanizada. Isso tem grande interesse e potencial tecnológico para o desenvolvimento de agentes despoluidores e organismos como plantas tolerantes a certos poluentes ou pesticidas agrícolas. Esse é o caso de culturas bacterianas do solo tolerantes a herbicidas que serviram de fonte genética de onde extraíram genes para transformação genética de plantas (via rDNA), obtendo-se plantas transgênicas tolerantes aos herbicidas. Esse é o caso do gene *pat* isolado do *Streptomyces viridochromogenes* do solo, que codifica a enzima *phosphinothricin acetyl* transferase (PAT), o qual quando introduzido e expresso na planta, confere tolerância ao herbicida glifosinato. Isso é de grande interesse agrônomo, sendo disponíveis várias culturas transgênicas com essas características comercializadas na Argentina e na América do Norte e em fase de teste para liberação no Brasil.

6.4.3. Fatores que afetam a biodegradação

As características estruturais da molécula e os fatores ambientais onde sucede a degradação são muitos, interagindo e variando intensamente em tempo e espaço. As principais características químicas do produto em relação à degradação são: tamanho, estrutura química, forma e carga de molécula e existência de grupos funcionais. Essas determinam o comportamento no solo, o grau de toxicidade, a rota metabólica e a absorção pelos microrganismos. Em geral, quanto maior, mais condensada e mais ramificada, maior é a estabilidade química e menor a degradação da substância. Também a existência de ligações químicas incomuns, substituições halogênicas, NO₂, -SO₃H, CN, -CH₃, -CF₃, -NH₂, -OCH₃, existência de anéis aromáticos e arranjos específicos, contribuem para a baixa degradabilidade dos xenobióticos.

A importância desses aspectos pode ser avaliada num contexto hierárquico, variando os níveis de complexidade e de interesse, partindo-se do nível subcelular a condições reais de campo (**Figura 6.20**). A condição essencial para que ocorra biodegradação é a existência de genes apropriados e expressos na

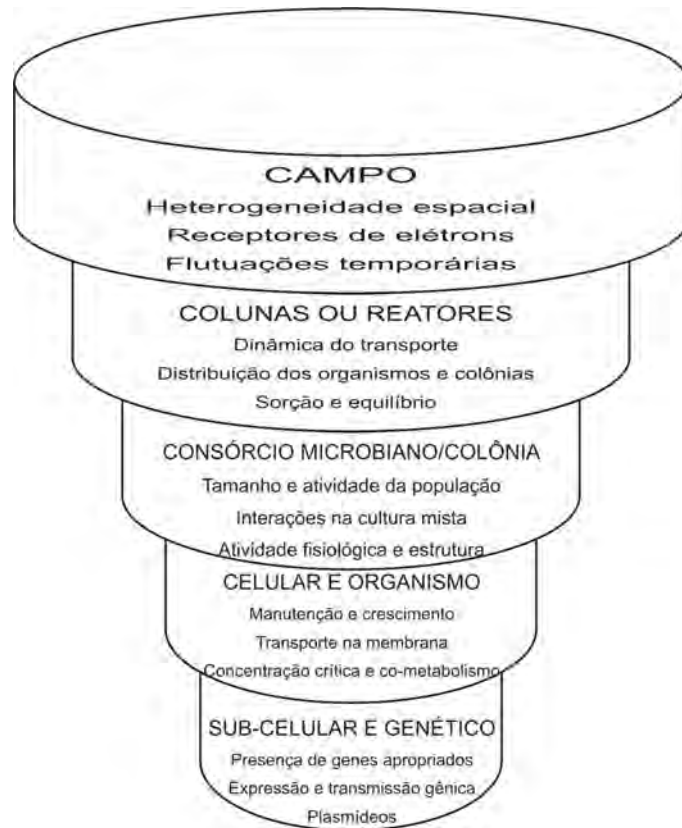


Figura 6.20. Organização hierárquica de aspectos mais relevantes em relação à biodegradação de xenobióticos em vários níveis de interesse.

comunidade microbiana (competência). As informações genéticas para catabolismo do xenobiótico estão contidas principalmente nos plasmídeos, sendo conhecidos mais de 20 plasmídeos específicos com esta capacidade, cuja atividade expressa em determinado microrganismo pode ser avaliada em condições controladas ou de campo. Inúmeros fatores ambientais isolados (**Tabela 6.8**), assim como os produtos da biodegradação, influenciam diferentemente a velocidade da biodegradação e por isto são determinantes da dissipação da maioria dos pesticidas no solo. Os fatores mais importantes determinantes da biodegradação dos xenobióticos no solo são:

- temperatura: influencia os processos de sorção, solubilidade e viscosidade, os quais têm grande influência na taxa de reação e na atividade da população do solo. Processos de degradação são máximos em temperaturas entre 24 e 35°C;
- reação do solo (pH): a influência do pH depende muito das condições de solo como a capacidade tampão e tipo de argila, do contaminante e das populações degradadoras. O ideal para a maioria dos casos é entre pH 5,6 e 8,0;

Tabela 6.8. Fatores ambientais que influenciam a persistência/degradação dos xenobióticos no solo (Souza-Silva & Fay, 1997).

Fatores	Principais efeitos e comentários
Adsorção/dessorção	Influencia a biodisponibilidade do xenobiótico e nutrientes, o crescimento microbiano e a atividade enzimática.
Matéria orgânica	Aumenta a população e acelera a degradação, mas pode adsorver o xenobiótico e interferir nos processos.
Umidade/aeração	Controla a biomassa e a atividade e o tipo de metabolismo microbiano. Inundação acelera degradação dos aromáticos clorados.
Potencial de redox (Eh)	Determina a relação entre compostos oxidados e reduzidos no solo. Solos bem aerados têm valores entre 800 e 400 mV, favorecendo a oxidação. Solos inundados, por exemplo, têm metabolismo redutivo com Eh entre -100 e -300 mV.
Acidez do solo	Afeta o crescimento e a atividade microbiana. Degradação de organofosforados e carbamatos é afetada pelo pH, enquanto, a de organoclorados, não. Tem efeitos diretos na molécula orgânica, influencia disponibilidade e absorção do composto.
Temperatura	É a variável microambiental que exerce maior influência na degradação. Influencia a termodinâmica do metabolismo celular e os processos químicos dos pesticidas.
Aplicação do xenobiótico	Dose, frequência de aplicação, formulação, mistura com outros produtos.

c) características físicas: a área de superfície e a porosidade têm forte relação com os processos de sorção, mobilidade e biodisponibilidade do xenobiótico no solo;

d) matéria orgânica e nutrientes: teor de matéria orgânica influencia a biodisponibilidade, o *habitat* e garante maior biomassa microbiana, e os nutrientes estimulam a degradação, especialmente N e P;

e) receptores de elétrons: boa aeração ou presença de receptores alternativos em ambientes anóxicos determinam o tipo de população ativa (metabolismo) na degradação;

f) metais pesados: podem influenciar a biomassa e a atividade degradadora. Vários metais, quando em excesso, são inibidores enzimáticos ou do crescimento microbiano;

g) comunidade microbiana: adaptação para a degradação de substância específica (biodegradação acelerada) e aumento das populações de organismos com atividade degradadora específica possibilitam o aumento da biodegradação, contribuindo para reduzir a persistência no solo.

A *biodegradação acelerada* ou aumentada ocorre depois de repetidas aplicações de certas substâncias no solo e representa um tema de grande interesse na relação pesticida-microbiota-solo. Conforme exemplificado na **figura 6.21**, tem-se mais carbofuran residual no solo sem aplicação prévia do produto que tratado repetidamente com o inseticida, caracterizando a degradação acelerada. Esse fenômeno é amplamente documentado, ocorrendo com dezenas de herbicidas e inseticidas, porém raros com os fungicidas (**Tabela 6.9**). A biodegradação acelerada resulta de um processo natural de adaptação metabólica da comunidade, que ainda não é bem compreendido. O fato de o produto ser usado como substrato para certos organismos pode exercer efeito seletivo e estimulante neles, mas isso parece não explicar satisfatoriamente o fenômeno, pois ocorre também aumento na atividade enzimática específica, sugerindo alguma indução ou alteração genética da comunidade indígena do solo. Em geral, a biodegradação acelerada resulta de aumento em população específica e de sua atividade degradadora.

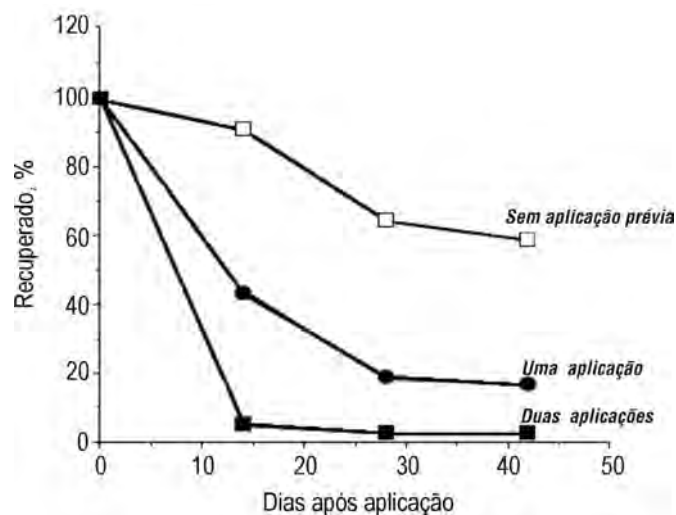


Figura 6.21. Degradação do carbofuran (Furadan 15G) em um solo siltoso em função de aplicação prévia do produto. (Dados de Felsot, 1986 extraídos de Felsot & Shelton, 1993.)

Tabela 6.9. Exemplos de pesticidas com biodegradação acelerada conhecida (Felsot & Shelton, 1993).

Herbicidas:	2,4-D, alaclor, butilato, chlorprofam, dalapon, dialate, difenamid, diuron, endotal, EPTC, MCPA, liuron, napropamide, pronamida, profam, pyrazon, trialate e vernolate.
Inseticidas:	aldicarbe, bentfuracab, benomil, carbaril, carbofuran, carbosulfan, coetacarbe, diazinon, disulfotonsufone, ethoprop, fensulfotion, fonofos, furaticarbe, isofenfos, isopropcarbe, mefosolar, metomil, oxamil, paration, foratosulfone, profam, terbufos sulfoxido e trimethacarb.
Fungicidas:	Metaloxil e vinclozolin.

O fenômeno da biodegradação acelerada tem duas conseqüências opostas: se, por um lado, pode acelerar o desaparecimento do produto, promovendo a destoxificação e evitando seu acúmulo no solo, por outro pode reduzir a eficácia do praguicida aplicado sobre os organismos-alvo (patógeno ou praga). A redução da eficácia tem, de fato, ocorrido com vários produtos como o aldicarbe, cujo uso prolongado resultou em diminuição na eficiência de controle de nematóides e pragas da batatinha, em função da degradação acelerada do composto em solos holandeses (Smelt et al., 1987).

A existência de microrganismos selecionados, naturalmente para maior degradação, representa importante mecanismo para remediação de áreas poluídas, através da *bioaumentação*, que é o aumento da capacidade degradadora da população microbiana local. A bioaumentação tem grande potencial de aplicação, podendo ser explorada das seguintes maneiras:

- a) através da estimulação ou aumento da população, que ocorre naturalmente;
- b) isolamento ou remoção de microrganismos de local contaminado para enriquecimento de outras áreas;
- c) introdução de microrganismos selecionados ou melhorados geneticamente por vias convencionais ou pela tecnologia do DNA recombinante.

A incorporação de genes degradadores de xenobióticos em microrganismos é feita via plasmídios ou transposons, garantindo a manutenção do DNA exógeno no organismo geneticamente modificado (OGMs). Desde a década de 70, bactérias recombinantes para despoluição do ambiente foram desenvolvidas, sendo conhecidas diversas tecnologias de despoluição baseadas nos OGMs. Entretanto, os riscos de dispersão do organismo e a transferência gênica para a população indígena têm limitado a aplicação dos OGMs para essa finalidade.

6.5. Biorremediação microbiana

Biorremediação é definida como estratégia ou processo que emprega microrganismos ou suas enzimas para destoxificar contaminantes no solo ou outros ambientes. Consiste, basicamente, na transformação do contaminante a formas que não oferecem riscos ambientais. Portanto, é fundamentada nos processos de degradação microbiana e nas reações químicas combinadas com processos de engenharia, criando condições para maximizar as transformações dos contaminantes orgânicos do solo (Adriano et al., 1999).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), as principais categorias de contaminantes do solo são, em ordem decrescente: cloroalifáticos > pesticidas > hidrocarbonetos aromáticos > cloroaromáticos > aromáticos simples e outros. Esses se originam da industrialização do petróleo bruto, indústrias químicas e atividades agrícolas, sendo muitos deles de difícil decomposição e, por isso, causam sérios impactos ambientais. Alguns representantes mais importantes no âmbito da biorremediação são:

304 Capítulo 6 · Xenobióticos no Solo

a) os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), que são orgânicos voláteis com várias ligações tipo benzeno condensadas, representam mais de 100 diferentes compostos de usos diversos como antraceno e benzopireno. Os HAPs são, em sua maioria, lipofílicos e adsorvem fortemente suas superfícies hidrofóbicas. O interesse na biorremediação destes compostos é crescente devido aos efeitos mutagênicos e carcinogênicos dos mesmos. Conforme discutido por Accioly & Siqueira (2000), quando as concentrações no solo atingem valores acima de 100 mg kg^{-1} , tornam-se necessárias ações mitigadoras para evitar maiores danos;

b) os hidrocarbonetos halogenados, especialmente os clorados, são os xenobióticos de maior persistência no solo devido à sua baixa degradabilidade que é, em sua grande maioria, resultante da baixa solubilidade, configuração e tamanho molecular, toxicidade e elevada energia química de ligação. Os contaminantes mais estudados no âmbito da biorremediação são: PCP (pentaclorofenol), TCE (tricloroetileno) e os PCBs (bifenis policlorados);

c) os derivados nitrogenados do nitrotolueno empregados na confecção de materiais explosivos como o TNT (2,4,6-trinitrotolueno).

Do ponto de vista prático, a biorremediação é fundamentada em três aspectos principais:

- a) existência de microrganismos com capacidade catabólica para degradar o contaminante;
- b) o contaminante tem que estar disponível ou acessível ao ataque microbiano ou enzimático;
- c) devem existir condições ambientais adequadas para o crescimento e a atividade do agente biorremediador.

Microrganismos com as mais diversas capacidades metabólicas são empregados na biorremediação. Alguns destes são pertencentes a gêneros de bactérias e fungos como: *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Mucor*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Phanerochaete* e *Trametes*. A rota metabólica da degradação é determinada pela estrutura química funcional do produto e depende do microrganismo envolvido e do ambiente. Esse conjunto de fatores determina os produtos formados, tornando-se de grande importância na biorremediação, que idealmente busca atingir a mineralização para eliminar os efeitos residuais em potencial.

6.5.1. Técnicas de biorremediação

Apesar de fundamentadas em um único processo básico, que é a biodegradação, as técnicas de biorremediação envolvem variações de tratamentos *in situ* (no local) e *ex situ* (fora do local) que podem envolver inúmeros procedimentos apresentados na **tabela 6.10** e comentados aqui. A maioria dessas estratégias se aplica aos tratamentos de superfície, enquanto algumas são específicas para a biorremediação em subsuperfície como é o caso da bioventilação, que consiste na injeção de ar no solo (ou camada) contaminado para estimular a degradação do contaminante. O sucesso de qualquer um desses procedimentos depende de vários aspectos, os quais se encontram resumidos na **tabela 6.11**.

Tabela 6.10. Tipos e estratégias para biorremediação do solo (Skipper, 1998)

Biorremediação	Fundamentos e definições
Passiva	Consiste na degradação intrínseca ou natural pelos microrganismos indígenas do solo.
Bioestimulação	Consiste na adição de nutrientes, como N e P, para estimular os microrganismos indígenas.
Bioventilação	É uma forma de bioestimulação por meio da adição de gases estimulantes, como O ₂ e CH ₄ , para aumentar a atividade microbiana decompositora.
Bioaumentação	É a inoculação do local contaminado com microrganismos selecionados para degradação do contaminante.
"Landfarming"	É a aplicação e incorporação de contaminantes ou rejeitos contaminados na superfície de solo não contaminado para degradação. O solo é arado e gradeado para promover a mistura uniforme do contaminante e aeração.
Compostagem	É o uso de microrganismos termofílicos aeróbios em pilhas construídas para degradar o contaminante.

Tabela 6.11. Principais dificuldades para o sucesso dos tratamentos biológicos de solos contaminados (Sklandany & Metting Jr., 1992).

Principais aspectos	Comentários gerais
Heterogeneidade do rejeito	Os rejeitos são distribuídos de modo heterogêneo no solo e o contaminante pode ocorrer em formas não acessíveis.
Concentrações do contaminante	Contaminantes podem estar presentes em concentrações variadas (de muito baixa a muito alta). Se muito baixa, pode não garantir o crescimento microbiano e, se muito alta, pode ser tóxica e inibir o crescimento.
Toxicidade e persistência	Tratamentos biológicos são eficientes para remover materiais biodegradáveis e de baixa toxicidade. Contaminantes resistentes à biodegradação exigem adequação nutricional do solo (como fonte de C) e consórcio microbiano.
Condições adequadas para o crescimento microbiano	Atividade microbiana suficiente para promover adequada degradação exige condições ambientais favoráveis.

A natureza química, bioatividade, distribuição na matriz do rejeito ou de solo e a concentração do contaminante são fatores decisivos da biotratabilidade do rejeito. Essa, em última análise, determinará o sistema a empregar, assim como as possíveis limitações, riscos e eficácia do tratamento. Vários contaminantes podem ser tratados biologicamente com sucesso, incluindo petróleo bruto, hidrocarbonetos do petróleo como gasolina (que contém benzeno, xileno, tolueno e etilbenzeno), óleo diesel, combustível de avião, preservativos de madeira, solventes diversos, lodo de esgoto urbano ou industrial, e outros compostos xenobióticos ou biogênicos. Atualmente, sabe-se que mais de 300 compostos individuais são passíveis de destoxicação por biorremediação empregando os diferentes procedimentos.

“Landfarming” ou disposição no solo

Consiste na aplicação do contaminante em forma líquida ou sólida na camada arável do solo, onde se concentram 90% dos microrganismos que usam os contaminantes como fonte de energia e que podem transformá-los também, mas não exclusivamente, por co-metabolismo. Nesse processo, a matriz (rejeito) contaminada é misturada ao solo por aração e gradagem e as condições físico-químicas do solo (água, aeração e nutrientes), ajustadas para maximizar a atividade heterotrófica. Cria-se, assim, a camada reativa chamada “zona de tratamento” fazendo com que essa região do solo atue como biorreator natural (**Figura 6.22**). Essa camada pode atingir 0,5 m, dependendo da profundidade de incorporação e manejo dos resíduos. Abaixo dessa zona situa-se uma camada de solo ainda não saturada, acima do lençol freático. Uma variação do “landfarming” convencional inclui a presença de plantas, cujo ambiente rizosférico aumenta a atividade dos heterotróficos e a velocidade e eficiência da degradação do contaminante. A pulverização do solo pela aração e gradagem superficial facilita o espalhamento do solo com contaminante pelo vento. Para reduzir esse problema, o solo deve ser mantido úmido e a possibilidade de introduzir uma cobertura vegetal na área é muito interessante também por esse aspecto.

O “landfarming” é empregado com elevada eficiência no tratamento de rejeitos industriais, especialmente na indústria petroquímica (Bewley, 1996). Concentrações de petróleo até de 7% (70.000 mg kg⁻¹) são reduzidas para 100-200 mg kg⁻¹ em poucos meses, desde que as condições físicas (umidade e aeração), químicas (presença de aceptores de elétrons) e biológicas (elevada atividade heterotrófica), sejam adequadas. Esses poluentes geralmente têm alta relação C:N, necessitando de suplementação de N. Para a degradação de 100 unidades de C, são necessárias, em média, duas unidades de N para bactérias, 3 a 4 para fungos e 3 a 6 para actinomicetos. Assim, para se obter sucesso com esse processo, além da boa aeração, para que o O₂ não seja limitante, garantindo o fluxo de elétrons da biooxidação, a disponibilidade de N, P e outros nutrientes no solo são essenciais, bem como é importante conhecer a relação C:N do material a tratar. Para lodos de refinarias de petróleo, a biodegradação é favorecida quando a relação C:N for inferior a 10:1. Por isso, o tipo de solo e seu teor de matéria orgânica, assim como a aplicação de N, são fatores que precisam ser bem controlados.

As condições químicas e a matéria orgânica do solo são importantes para a população microbiana co-metabolizante, que também atua na biodegradação de certos componentes do petróleo e de outros resíduos. Muitos contaminantes apresentam baixa degradabilidade e, nesse caso, o tratamento do rejeito com surfactante ou agentes pré-oxidantes, reduz a recalcitrância e acelera sua degradação pelos

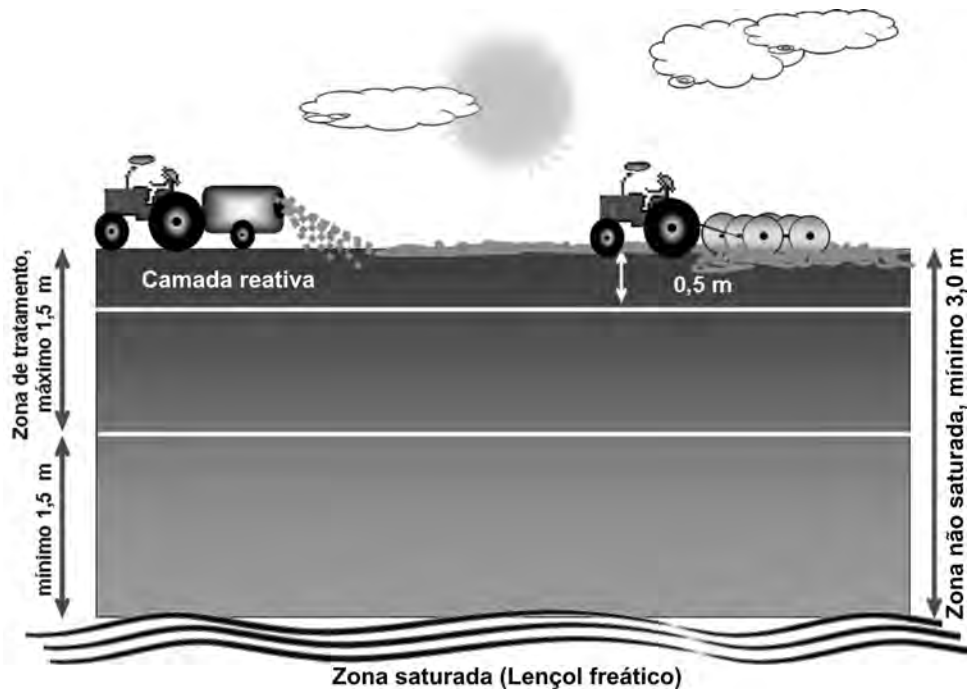


Figura 6.22. Seção transversal esquemática de uma célula da unidade de tratamento no solo empregado pelo “landfarming”. (Cortesia I. Trannin.)

microrganismos. Em condições ótimas de nutrientes (e.g. relação C:N:P 70:5:1) a biodegradação de petróleo bruto ou lodo de refinaria atinge de 60 a 86% em menos de um ano. A composição química do resíduo também determina a velocidade de sua decomposição. A fração de compostos saturados do petróleo degrada-se mais facilmente do que a insaturada, exercendo grande influência no tratamento dos resíduos de refinarias. No Brasil, as condições climáticas são muito favoráveis ao emprego desse processo. Na refinaria da Petrobras, em Curitiba (PR), em solo com biota adaptada para biodegradação desses rejeitos, é possível tratar de 0,5 a 1,0 m³ de óleo por m² de solo por ano ao custo de cerca de R\$15,00 por m³ e, no caso de lodo de destilaria, é possível tratar de 400 a 800 Mg ha⁻¹ (Prof. F. Carvalho, Comunicação pessoal). Paula et al. (2006) avaliaram a biomassa microbiana e a atividade heterotrófica de um solo de área de “landfarming” de resíduo petroquímico, cujas contagens microbianas indicaram $9,5 \cdot 10^7$ e $1,8 \cdot 10^4$ UFC de bactérias heterotróficas e actinomicetos respectivamente. Neste estudo, a biomassa microbiana ($692,9 \mu\text{g g}^{-1}$ solo) e os indicadores de atividade bioquímica (respiração basal, respiração induzida por substrato e $q\text{CO}_2$) apresentaram valores típicos normalmente encontrados em solos não contaminados, exceto para o $q\text{CO}_2$ que foram bem elevados ($6,38 \pm 0,53 \mu\text{g C-CO}_2 \mu\text{g BM-C h}^{-1}$). Esses resultados indicam a presença de uma comunidade microbiana ativa. Entretanto, foi verificada baixa atividade da β -glicosidase, fosfatase ácida e urease, indicando interferência nos processos bioquímicos do solo que poderá comprometer a longo prazo a capacidade do solo de transformar os resíduos depositados.

Outro exemplo bastante interessante de biorremediação ocorreu no tratamento de solo contaminado com atrazina na fábrica da Ciba-Geigy Corp no Estado de Louisiana (EUA). O solo, além de arado e gradeado, recebeu 880 kg de fertilizante 13-13-13 (NPK) e aplicação de culturas de *Pseudomonas* degradadoras de atrazina. Após 20 semanas, a concentração do contaminante reduziu de 100 mg kg⁻¹ para 10 mg kg⁻¹, redução de 90% da concentração original. Para uma área de 1,9 ha de solo contaminado, a empresa gastou 1,05 milhão de dólares, enquanto, para outro procedimento, como escavação e disposição apropriada do solo contaminado, seriam gastos 5,3 milhões de dólares. Com o emprego da biorremediação 4,25 milhões de dólares foram economizados pela empresa. Portanto, o “landfarming” representou uma economia de 2,3 milhões de dólares no tratamento de 1 ha de solo poluído.

Apesar de ser um processo simples, para a implantação do “landfarming”, devem-se observar critérios técnicos para a seleção de locais apropriados, pois há formação de gases e materiais lixiviáveis que oferecem riscos ao ambiente. A topografia do solo, a localização em relação aos cursos d’água, o tipo e a profundidade do solo, são alguns aspectos importantes na definição da área destinada a esse processo. Os órgãos reguladores e de gestão ambiental possuem instruções normativas para a implementação do processo.

Biorremediação fase sólida

Baseia-se nos mesmos princípios do método anterior, porém constitui pilhas de solo, que funcionam como células de tratamento. Nas células, realiza-se controle mais rigoroso da volatilização, lixiviação e escoamento superficial de material contaminado, o que não ocorre no “landfarming”, sendo, portanto, mais seguro e apropriado para tratamento de solos contendo compostos que oferecem elevado risco ambiental. Na biorremediação fase sólida, pode-se também optar pela compostagem, que consiste em um tratamento controlado pela geração de calor pelos aeróbios termofílicos. A elevação da temperatura na massa contaminada é ideal para tratamento de rejeitos e lodos diversos, incluindo contaminantes explosivos. É um processo barato e fácil de ser monitorado

Tratamentos “in situ”

Os tratamentos *in situ* são baseados na manipulação da fase aquosa e estímulo da decomposição pela injeção de ar (bioventilação) e suplementação com nutrientes em galerias e poços de infiltração. É comum o uso de plantas nesse tipo de tratamento, as quais fornecem substratos à atividade microbiana, enquanto os microrganismos transformam os contaminantes. Além da biodegradação, os microrganismos atuam direta ou indiretamente na biossorção, reduzindo a ação dos contaminantes no meio ambiente.

Bioaugmentação

A biorremediação pode ainda envolver a inoculação do solo com culturas puras ou consórcio microbiano contendo microrganismos selecionados para degradações de contaminantes específicos, processo

esse conhecido por *bioaugmentação*. Esta tem sido bastante estudada para vários herbicidas, hidrocarbonetos clorados e carbamatos através do emprego de populações indígenas aclimatadas, isolados selecionados e até mesmo microrganismos transgênicos contendo plasmídeos degradadores (Bewley, 1996; Struthers et al., 1998). Para isso, recorre-se a populações aclimatadas através de mutação direta ou transformação genética, para degradação acelerada de determinado composto (Felsot & Shelton, 1993). Isolados indígenas, bem como microrganismos modificados geneticamente contendo plasmídeos catabólicos, têm sido empregados na produção de inoculantes comerciais para biorremediação. Várias bactérias e fungos, compreendendo dezenas de formulações comerciais, são vendidos nos EUA a preços que variam de 3,6 a 18,0 dólares kg^{-1} (Glass, 1992). Entretanto, existem poucas evidências definitivas de sucesso dessa técnica, exceto em algumas situações específicas, como se verifica com o *Agrobacterium radiobacter* J14a que possui elevada capacidade de degradar a atrazina e o fungo *Phanerochaete chrysosporum*, o qual degrada mais de 60 xenobióticos, incluindo aromáticos policíclicos, aromáticos clorados, alquil-clorados, biopolímeros e corantes diversos (Bumpus, 1993). O fungo *P. chrysosporum* é capaz de degradar entre 15 e 98% de vários xenobióticos em menos de 60 dias e, por isso, tem sido o principal organismo biorremediador empregado na bioaugmentação. Esta técnica, em geral, é mais apropriada para tratamentos de contaminantes muito recalcitrantes, em contaminações recentes e onde se pretende aplicar a degradação acelerada.

Uma estratégia que vem ganhando espaço é a fitorremediação, que consiste no emprego de plantas para acelerar o processo de degradação. As plantas, além de atuar diretamente sobre vários tipos de contaminantes, contribuem indiretamente através do efeito rizosférico sobre a microbiota, atuando como um “efeito priming” na biodegradação. Como exemplificado na **figura 6.23**, o tratamento de um solo contaminado com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) em concentração de 185 mg kg^{-1} de HAPs total e 50 mg kg^{-1} de HAPs carcinogênicos, sofreu redução de 26% após 180 dias de tratamento

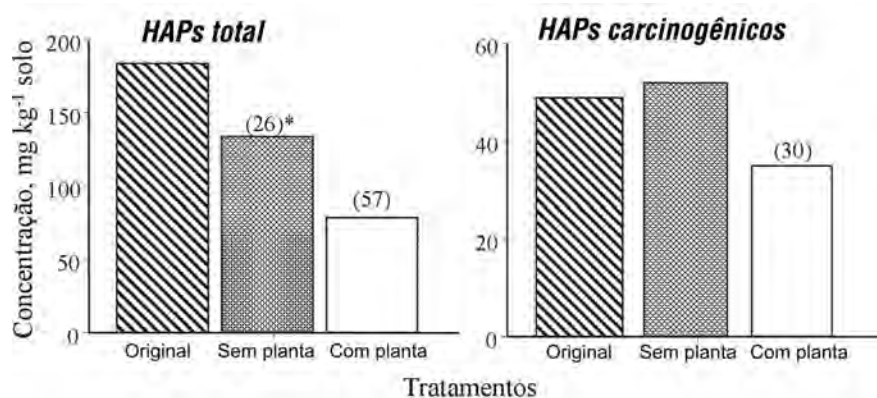


Figura 6.23. Biorremediação de solo contaminado por hidrocarboneto aromático polinuclear após 180 dias em “landfarming” com e sem *Panicum virgatum* (Pradhan et al., 1998). Números entre parênteses referem-se à porcentagem de redução em relação ao solo original.

310 Capítulo 6 · Xenobióticos no Solo

sem planta e, de 57% quando o solo foi semeado com *Panicum virgatum* (*switchgrass*). Para a fração carcinogênica, houve redução apenas no solo com plantas, nas quais essa redução no teor do contaminante foi de 30%. Outras plantas e contaminantes têm sido estudadas na biorremediação, evidenciando a importância dos processos microbianos por elas influenciados, especialmente na rizosfera onde os efeitos estimulantes das raízes sobre os microrganismos facilitam a decomposição do contaminante. Para mais informações sobre os aspectos do emprego da planta na remediação do solo, processo denominado de fitorremediação, consultar Accioly & Siqueira (2000).

A biorremediação microbiana tem concepção muito antiga, mas só recentemente evoluiu de estudos-piloto para algumas aplicações em larga escala. No momento, representa a principal tecnologia de remediação de solos contaminados, por ser:

- a) de baixo custo (13 a 1.500 dólares por tonelada de solo tratado) em relação a outras técnicas;
- b) uma solução permanente de descontaminação, pois promove a degradação;
- c) fundamentada em processos naturais sem interferências adicionais ao ambiente;
- d) aplicável a uma grande variedade de contaminantes e situações de solo;
- e) de grande aceitação pública.

Apesar de seu grande potencial e versatilidade, a biorremediação é ainda de emprego muito limitado, exceto “landfarming”, executada com sucesso em diversas situações de solos contaminados. No Brasil, praticamente não se explora a biorremediação, a não ser “landfarming” na indústria petroquímica.

BIBLIOGRAFIA

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. (Eds). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: SBCS, v.1, 2000. p.299-351.

ADRIANO, D.C.; BOLLAG, J.M.; FRANKENBERGER JR., W.T.; SIMS, R.C. **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/SSSA, n.37, 1999. 820p.

BERGMANN, H.; ENGELHARDT, G.; MARTIN, D.; MENGES, H.J.; OTTO, D.; RITCHER, R.; SCHOKNECHT, U.; WALLNÖFER, P.R. **Degradation of pesticides, desiccation and defoliation, Ach-receptors as targets**. Chemistry of plant protection. 2.ed. Berlin: Heidelberg, 1989. 115p.

DOMSCH, K.H.; JAGNOW, G.; ANDERSON, T.H. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. **Residue Reviews**, New York, v.86, p.65-105, 1983.

EDWARDS, C.A. Impact of herbicides on soil ecosystems. **Critical Reviews in Plant Science**, Boca Raton v.8, n.3, p.221-257, 1989.

GREAVES, M.P.; DAVIES, H.A.; MARSH, J.A.P.; WINGFIELD, G.I. Herbicides and soil microorganisms. **Critical Reviews in Microbiology**, 1976.

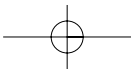
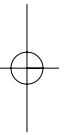
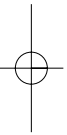
MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Microbiologia ambiental**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. 440p.

METTING JR., F.B. **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1992. 648p.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and Applications of Soil Microbiology**. Prentice-Hall, Inc. New Jersey: Simon & Schuster, 1998. 550p.

VAN-ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. **Modern soil microbiology**. New York: Marcel Dekker, 1997. 683p.

WORKSHOP SOBRE BIODEGRADAÇÃO, 1996, Jaguariúna. Anais... Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1996. 256p.



Capítulo 7

Transformações Bioquímicas e Ciclos dos Elementos no Solo

7.1 As transformações dos elementos e a sustentabilidade

O conhecimento dos processos biológicos que regulam as transformações e fluxos de materiais na biosfera é de grande importância, considerando a função-chave que desempenham no controle da disponibilidade dos vários elementos químicos necessários às diversas formas de vida do planeta. O solo e a biota são componentes essenciais dos ecossistemas terrestres, onde os processos que garantem os chamados “serviços da natureza”, como a ciclagem de energia e dos elementos, são de grande interesse ecológico e econômico. Um melhor entendimento dos processos no sistema solo-planta, suas interfaces e interações são essenciais para planejar o uso correto dos recursos naturais e dos insumos manufaturados usados na exploração sustentada dos ecossistemas. Para se ter uma idéia, a ciclagem dos elementos no ambiente terrestre é um valioso serviço da natureza, tendo um valor econômico estimado em 1.280 dólares $\text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, representando importante parte do chamado “PIB verde”, cujo valor global de todos os serviços varia de 16 a 54 trilhões de dólares, com média de 33 trilhões de dólares anuais (Costanza et al., 1997). O valor monetário global estimado para a ciclagem dos elementos equivale, aproximadamente, ao PIB econômico mundial, que era da ordem de 18 trilhões de dólares ano^{-1} à época conforme afirmam os autores da pesquisa.

O fluxo dos elementos é extremamente complexo e apresenta forte relação e influência do clima e de ações antrópicas sobre os ecossistemas (**Figura 7.1**). No âmbito deste livro serão abordados apenas os aspectos relacionados à atividade dos microrganismos e as transformações por eles mediadas, com ênfase em carbono, nutrientes e alguns metais pesados no solo. Os microrganismos atuam direta ou indiretamente na decomposição orgânica, mineralização, imobilização orgânica, oxidação/redução, solubilização, precipitação e volatilização (**Tabela 7.1**) de elementos no sistema solo-planta como: H, O, C, N, P, S, K, Ca, Si, Mg, Fe, Mn, Cr, Cl, As, Se, Zn, Cd e Hg.

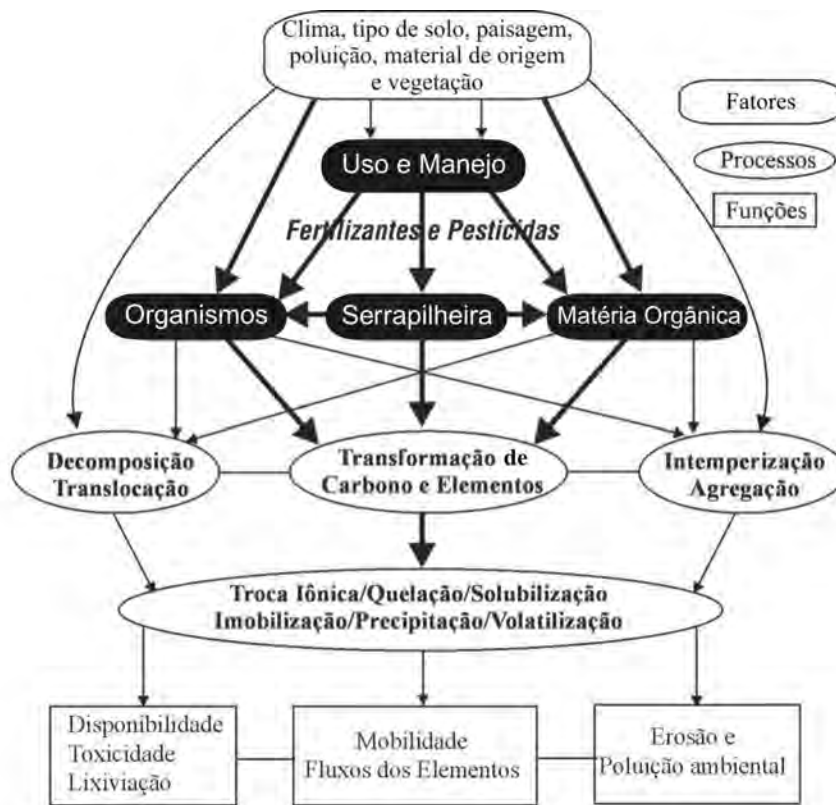


Figura 7.1. Relações entre características ambientais, processos no solo e funções do ecossistema que determinam as transformações e fluxos dos elementos no solo.

Os elementos em forma solúvel vão para a solução do solo, onde são influenciados por transformações bióticas e abióticas específicas que regulam os processos de adição e perda, assim como a sua biociclagem, passando por diferentes formas no solo e absorção pela vegetação e microbiota. A vegetação absorve os elementos (nutrientes ou não) do solo e assimila CO_2 e N_2 do ar (no caso das que formam simbiose com bactérias fixadoras), acumulando-os na fitomassa, representando um importante estoque e compartimento deles no ecossistema. Esses nutrientes, ao serem depositados no solo via necromassa são transformados pelos organismos heterotróficos liberando-os totalmente ou parcialmente em forma mineral disponível, completando assim parte de seu ciclo na natureza.

A velocidade dos fluxos e o estoque no solo ou na vegetação são influenciados pelo clima, microclima e ações antrópicas que, nas últimas décadas, têm exercido grande influência nesses processos (Figura 7.1). A interferência humana tem causado grande impacto nos ciclos biogeoquímicos dos elementos através dos ciclos hidrológicos e de sedimentos, destacando-se, conforme discutido por Falkowski et al. (2000), o seguinte:

- a) a queima de combustíveis fósseis e a mudança no uso da terra têm aumentado 13% o fluxo de C-CO₂ para a atmosfera;
- b) a queima de combustíveis fósseis e a produção de fertilizantes têm elevado 108% a intensidade do fluxo do N reativo;
- c) a mineração de fontes de fósforo tem aumentado 400% a magnitude do fluxo desse elemento na biosfera;
- d) a queima de combustíveis fósseis e da biomassa terrestre (desmatamento) tem contribuído 113% para elevar a emissão de S para a atmosfera;
- e) o desbalanço entre precipitação e o uso da água tem alterado 16% os fluxos de O e H (H₂O);
- f) a carga de material em suspensão nos rios tem aumentado 200%.

Tabela 7.1. Principais processos e mecanismos de transformações bioquímicas que regulam a ciclagem dos elementos no sistema solo-planta-atmosfera.

Elemento	Processo	Mecanismo	Importância para
C	Fotossíntese	Incorporação de C e energia	Atividade microbiana no solo
	Decomposição	Lise macromolecular	Formação de húmus no solo
	Mineralização	Liberação de CO ₂ e nutrientes	Fertilidade do solo e gases do efeito estufa
N	Amonificação	N-orgânico → NH ₃	Aumenta a disponibilidade
	Imobilização	NO ₃ ⁻ e NH ₄ ⁺ → N-orgânico	Reduz a disponibilidade
	Nitrificação	NH ₄ ⁺ → NO ₃ ⁻	Facilita a lixiviação
	Desnitrificação	NO ₃ ⁻ → N ₂ O, N ₂	Perdas de N na forma gasosa
	Fixação biológica	N ₂ → NH ₃ → N-orgânico	Incorporação de N nos seres vivos
P	Mineralização	P-orgânico → PO ₄ ⁻³	Aumenta a disponibilidade
	Imobilização	PO ₄ ⁻³ → P-orgânico	Reduz a disponibilidade
	Solubilização	P-insolúvel → PO ₄ ⁻³	Aumenta a disponibilidade
S	Mineralização	S-orgânico → SO ₄ ⁻²	Aumenta a disponibilidade
	Imobilização	SO ₄ ⁻² → S-orgânico	Reduz a disponibilidade
	Oxidação	S ⁰ → SO ₄ ⁻²	Provoca acidificação do solo
	Oxi-redução	SO ₄ ⁻² → H ₂ S	Perda de S e fitotoxicidade
Metais	Oxi-redução	Mox ⇌ Mred	Solubilidade, toxicidade e poluição

Essas alterações têm fortes implicações no funcionamento dos ecossistemas por aumentar as quantidades de formas reativas dos elementos e interferir nos componentes bióticos. Em termos genéricos, os nutrientes são extraídos do solo pelas plantas e distribuídos no ambiente. Grande parte vai para a cidade, para corpos d'água e para a atmosfera, retornando ao solo. Este, portanto, tem uma função ecológica essencial à reciclagem dos elementos, representando uma infra-estrutura fundamental da biosfera.

As transformações e os fluxos dos elementos no solo estão estritamente ligados aos do carbono orgânico, cujos fundamentos biológicos já foram discutidos nos capítulos 4 e 5 e abordados em detalhes em Stevenson (1986), e, apresentados de modo resumido na **figura 7.2**. Os componentes bióticos dos ecossistemas são essenciais para garantir a ciclagem dos nutrientes no sistema vegetação-solo, sendo esse um importante serviço da natureza, onde os organismos atuam de modo contínuo, muito regulado e sincronizado com os demais processos do sistema. A vegetação absorve os elementos da solução do solo e os assimila em seus tecidos com a ajuda da energia solar: ao final do ciclo, são depositados no solo, onde, por ação da fauna, e catalisados pela biomassa microbiana, são mineralizados, liberando parte para a atmosfera e parte para a solução do solo para ser novamente absorvidos, estabelecendo, assim, um subciclo. O processo todo denomina-se *ciclagem biogeoquímica* num contexto global e *reciclagem* numa visão mais específica. Nos agrossistemas em solos deficientes em nutrientes, além da reciclagem, quantidades elevadas de nutrientes são adicionadas via fertilização para garantir a produção.

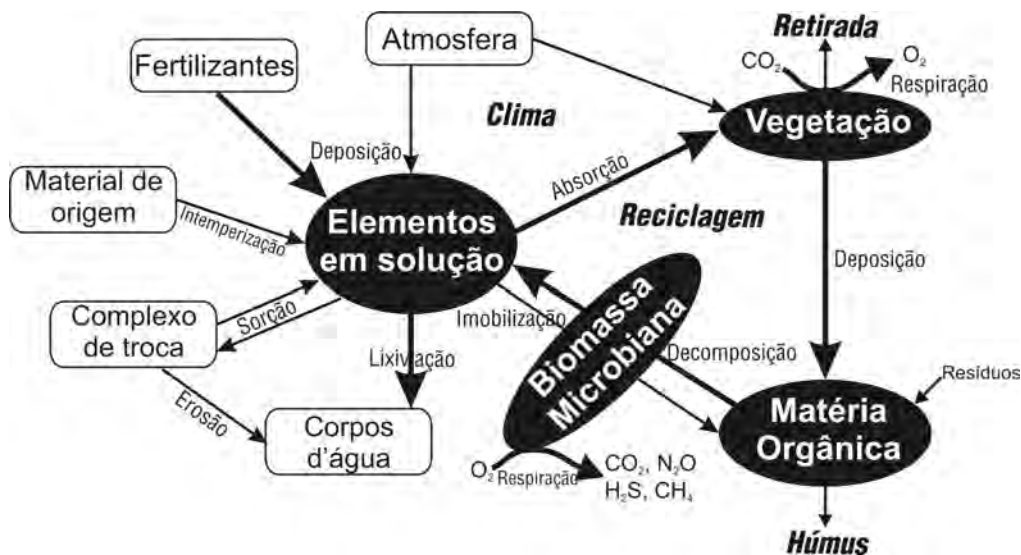


Figura 7.2. Ilustração dos principais compartimentos e processos de adição, retirada e transformação (biociclagem) dos elementos no sistema solo-vegetação. Setas mais largas indicam a intensidade e a relevância relativa do processo.

O funcionamento dos ecossistemas envolve processos de ganhos (entradas) e perdas (saídas) de carbono e nutrientes, determinando a intensidade e o balanço desses processos opostos, o grau de sustentabilidade do ecossistema (**Figura 7.3**) ou a eficiência daqueles manejados para produção agrícola. O solo, juntamente com o ambiente edáfico, é a base de sustentação da pedosfera onde se distribuem os ecossistemas, cujos pilares de sustentação são os seguintes: fluxo de energia, ciclagem de nutrientes e biodiversidade, cuja atividade mantém os processos essenciais ao seu funcionamento e à manutenção. Se o ecossistema sofrer interferência que leve à perda de energia, redução da biodiversidade e retirada de nutrientes (ciclo aberto), ele terá a sustentabilidade comprometida. Por outro lado, ecossistemas com entrada de nutrientes, manutenção da biodiversidade, equilíbrio biológico e conservando energia terão sua sustentabilidade mantida. Portanto, como conceitualizado na figura 7.3, são evidentes as funções que os organismos do solo desempenham direta ou indiretamente no funcionamento dos ecossistemas. Um exemplo do estoque, fluxo e balanço geral da energia e carbono numa floresta tropical é apresentado na **figura 7.4**. Nesse caso, ocorre uma deposição de 24,5 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de material orgânico, como folhas, troncos e raízes que, somados ao C do solo, representam enorme estoque. Através do fluxo respiratório, grande parte do carbono e da energia é devolvida para a atmosfera na forma de CO₂ (total de 23,3 Mg ha⁻¹ ano⁻¹) via processos heterotróficos das raízes e do solo que, juntos, liberam 19,5 Mg ha⁻¹ ano⁻¹. Essa liberação corresponde a 84% do fluxo respiratório da floresta. A respiração das folhas e troncos libera outros 3,8 Mg ha⁻¹ ano⁻¹. Nesse caso, a floresta está reciclando os nutrientes e também absorvendo (seqüestrando) da atmosfera 1,1 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ de C, atuando como dreno de C, contribuindo, assim, para amenizar o efeito estufa resultante do enriquecimento de CO₂ da atmosfera.



Figura 7.3. Os pilares da funcionalidade e sustentabilidade do ecossistema. Representação esquemática destacando os processos bioquímicos do solo.

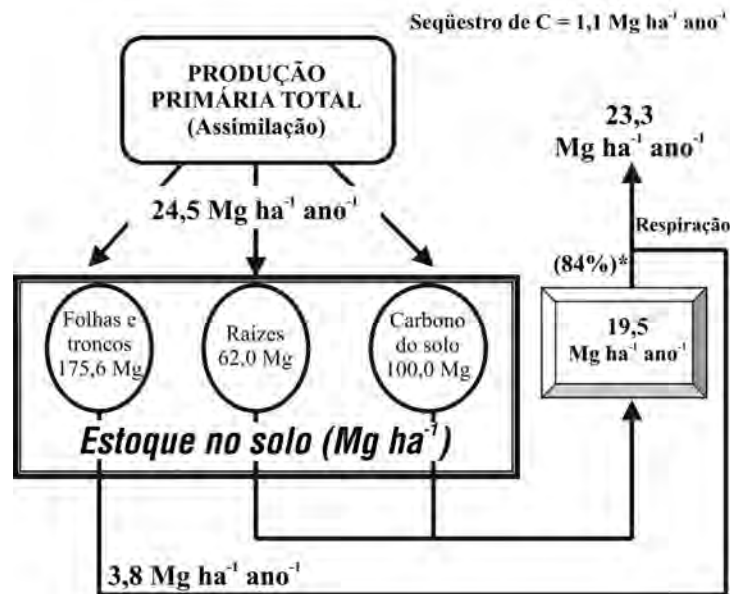


Figura 7.4. Fluxo e estoque de carbono em floresta tropical da reserva Jar-Rondônia. (Modificado de Meir et al., 1996.) *Contribuio relativa de raízes e respirao do solo.

Em ecossistemas florestais dos trópicos úmidos, a fitomassa (parte aérea e raízes) e a serrapilheira retm grande parte dos nutrientes circulantes como K, Ca e Mg (Tabelas 7.2 e 7.3), enquanto outros se acumulam mais no solo, como ocorre com N e P. O fato de que pequena proporo de nutrientes se acumula na matéria morta indica a eficiência da ciclagem naquela condio. Em uma floresta da Venezuela, Fassbender (1985) encontrou 1,2 Mg ha⁻¹ de N na vegetao contra 6 Mg ha⁻¹ no solo mais serrapilheira e, para o fósforo, esses valores foram de 69 kg ha⁻¹ na vegetao e 535 kg ha⁻¹ na serrapilheira, ao contrário do que ocorreu para o potássio, com 1.500 kg ha⁻¹ na vegetao e 235 kg ha⁻¹ no solo mais serrapilheira.

Pelos exemplos apresentados verifica-se que a distribuio dos nutrientes entre os componentes do ecossistema  bastante variável. Nas florestas de clima temperado, onde predominam situaoes que limitam a atividade microbiana, os elementos acumulam-se mais no solo e na serrapilheira. A produtividade primária  duas vezes maior em florestas tropicais que nas temperadas, enquanto a taxa de decomposio dos restos vegetais se situa entre 2 e 3% ao ano nos trópicos e de apenas 1% nas regioes temperadas. Essas diferenças se devem às condioes ambientais e  qualidade dos materiais orgânicos produzidos pela vegetao. Nas florestas temperadas, os resíduos apresentam elevados teores de compostos aromáticos e baixos teores de bases (e.g. K, Ca, Mg), o que dificulta a decomposio. Portanto, a ciclagem de C e nutrientes  muito rápida nas regioes mais quentes e midas do planeta que naquelas de clima frio e seco, onde esses elementos se acumulam na superfície do solo, formando o *manto florestal* que pode atingir metros de espessura. Já a alta intensidade dos processos

Tabela 7.2. Valores médios do estoque e deposição no solo via serrapilheira (fluxo) de C e nutrientes em ecossistema florestal tropical de baixada (Anderson & Spencer, 1991).

Componente	Elementos (kg ha ⁻¹)						Total
	C	N	P	K	Ca	Mg	
Parte aérea	344	1334	107	995	1801	288	4869
Raízes	41	442	12	96	561	49	1201
Serrapilheira	37	403	120	26	180	28	686
Total na vegetação	422	2179	239	1117	2542	365	6756
Solo (0-30 cm)	230	4581	406	249	3579	425	9470
% na serrapilheira	47	80	80	28	68	64	61
Fluxo anual (kg ha ⁻¹ ano ⁻¹)	---	149	7,3	65	137	32	---

Tabela 7.3. Estoque e distribuição de nutrientes na vegetação viva, parte morta e camada superficial do solo (0-30 cm) em floresta primária tropical (Modificado de Klinge, 1975).

Nutriente	Estoque --kg ha ⁻¹ --	Distribuição		
		Vegetação	Matéria morta	Solo
Nitrogênio	2.201	24,5	2,5	35
Fósforo	216	30,5	1,4	33
Potássio	562	88,2	1,4	10
Cálcio	528	96,0	4,0	0
Magnésio	298	85,0	6,0	6
Sódio	291	82,0	1,0	12

Quantidade de fitomassa 504 Mg ha⁻¹ e húmus 233 Mg ha⁻¹.

biológicos nas condições tropicais contribui para elevada fragilidade do ecossistema. Quando essas florestas são derrubadas, torna-se necessário o manejo correto dos restos vegetais no solo para evitar perdas rápidas de matéria orgânica e nutrientes nessas regiões. São evidentes as variações no estoque e na dinâmica de transformação de C do solo nos ecossistemas tropicais. Maior quantidade de C (nutrientes) é armazenada nos ecossistemas naturais, como florestas, em relação aos agrossistemas ou solo sem vegetação (**Tabela 7.4**). Por isso, solos sob vegetação natural, quando desmatados, são mais produtivos que aqueles cultivados, pois os nutrientes estocados são reciclados em pouco tempo, consumindo grande parte da matéria orgânica do solo, que se oxida rapidamente, quando a vegetação é retirada. Conforme exemplo da tabela 7.4, o tempo gasto para a reciclagem do material depositado é 3 a 4 vezes menor no solo cultivado que naqueles sob floresta ou savana. Isso garante o fluxo de grande quantidade de nutrientes no ecossistema (Tabela 7.2). O revolvimento (cultivo) do solo acelera os processos biológicos de oxidação, consumindo a matéria orgânica estocada. Caso esta não seja repostada, haverá grande perda do C e conseqüente perda da capacidade produtiva do solo que culmina com sua degradação.

Tabela 7.4. Estoque, incorporação e reciclagem do C do solo em diferentes ecossistemas tropicais sub-úmidos e semi-áridos da África (Modificado de Woomer et al., 1994).

Parâmetro	Ecossistema / Uso da terra			
	Floresta	Savana	Solo cultivado	Sem vegetação
Estoque de C, Mg ha ⁻¹	37,6	48,0	17,3	10,3
C-adicionado no solo, Mg ha ⁻¹ ano ⁻¹	2,0	2,3	3,0	0,7
Tempo de reciclagem, anos	18,3	20,8	5,8	---
C-microbiano, Mg ha ⁻¹	1,7	1,5	0,5	0,4
C-adicionado/C-microbiano	1,19	1,51	6,43	1,54

As ações antrópicas, como o desmatamento, poluição química da atmosfera e do solo, o uso de produtos químicos (fertilizantes e pesticidas), alteram os estoques e fluxo dos elementos, exercendo enorme influência em seus ciclos (Figura 7.1). Considerando apenas os efeitos da agricultura, especialistas estimam que, em 2050, mantidas as atuais taxas de crescimento populacional, demanda por produtos e nível tecnológico de produção, o impacto do uso de N e P na eutrofização será aumentado 2,4 e 2,7 vezes a atual (Tilman et al., 2001).

A decomposição e a mineralização dos materiais orgânicos e outros processos quimiolitotróficos são responsáveis pelas transformações que os elementos químicos sofrem no solo. Essas resultam de reações orgânicas e inorgânicas, em sua grande maioria mediadas pelos microrganismos que, por meio de mecanismos variados, regulam a disponibilidade e fluxo dos elementos (**Tabela 7.5**).

7.2. Carbono

7.2.1. As transformações e o ciclo

Muitos aspectos fundamentais envolvidos nas transformações e na ciclagem de C já foram abordados nos capítulos anteriores e, por isso, apenas aqueles específicos do ciclo desse elemento no solo serão tratados neste tópico.

Estimativas dos valores de carbono nos diversos compartimentos, bem como para os fluxos na biosfera, são muito variáveis, porém suficientes para entendimento razoável das transformações, fluxos e ciclo geral desse elemento. Embora a quantidade de C da biosfera terrestre seja muito pequena (estimada em cerca de 2.000 Gt; 1 Gt=10¹⁵ g) quando comparada ao que é encontrado na litosfera (superior a 75.000 Gt), nos oceanos (38.400 Gt) e nos fósseis (4.130 Gt) esse reservatório é de grande importância, por conter a maior parte do carbono circulante do planeta. Antes de atingir os sedimentos oceânicos, onde acumulará nas camadas mais profundas, principalmente em formas inorgânicas, o carbono circula pelos componentes da biosfera. Para o enfoque deste livro, adota-se um ciclo resumido e generalizado de C no sistema solo-planta-atmosfera (**Figura 7.5**). Esse ciclo é regulado por

Tabela 7.5. Mecanismos diretos ou indiretos pelos quais os microrganismos do solo influenciam as transformações e a ciclagem dos nutrientes no solo.

Mecanismo	Efeito / Importância
Mobilização	Liberação de nutrientes imobilizados nos restos vegetais e outros materiais depositados no solo através de mineralização e solubilização.
Imobilização	Imobilização assimilatória na biomassa microbiana e retenção em substâncias químicas complexas como o húmus.
Produção de metabólitos	Produção e excreção de substâncias quelantes e/ou complexantes que atuam na solubilidade e na mobilidade de vários elementos no sistema solo-planta (intemperização biológica).
Produção de enzimas	Reações enzimáticas de oxi-redução que controlam a solubilidade de vários compostos ou elementos no solo.
Alteração no pH	Transformações indiretas provocadas por modificações no pH do solo ou da rizosfera.
Oxi-redução	Redução de formas oxidadas de vários nutrientes em condições de baixa aeração e reações reversas em ambientes aerados.
Alteração da solubilidade	Produção de ácidos orgânicos e inorgânicos com ação solubilizadora de compostos inorgânicos.
Redução bioquímica	Transformações bioquímicas específicas, como a desnitrificação e a redução de sulfato, causando perda de nutrientes (gases).
Produção de toxinas	Produção de compostos tóxicos que poluem o ambiente, representando ameaças à saúde pública e reduzindo o crescimento das plantas.
Simbioses radiculares	Fixação biológica do nitrogênio atmosférico, formação de micorrizas e outras associações benéficas com as plantas.

processos de oxirredução, os quais determinam os fluxos de CO₂ para compostos orgânicos e, desses para CO₂ e CH₄ (Tabela 7.6). Tais processos controlam os fluxos e determinam os ganhos e as perdas, representando fonte e dreno de C entre o solo e a atmosfera, sendo esses fluxos também denominados *seqüestro* (dreno) e *emissão* (fonte) de C do solo para a atmosfera. Estima-se que, aproximadamente, metade de C fotoassimilado pelas plantas é consumido na respiração dos seres vivos para manutenção e crescimento. O restante vai para a serrapilheira, sofre rizodeposição ou é extraído como produto vegetal ou, indiretamente, como produto animal no caso de exploração agropastoril. Ao atingir o solo, materiais orgânicos sofrem decomposição, ocorrendo a devolução de grande porção de C desses para a atmosfera, ficando parte desse no solo.

A Bioquímica do Solo insere-se diretamente nesse contexto, tendo em vista que os processos que regulam as transformações oxidativas no solo e na serrapilheira são catalisados pelos organismos, sendo esses importantes reservatórios de C do sistema solo-planta. Pela infinita capacidade catalisadora das transformações químicas dos elementos, o solo assume função crucial como mediador de processos globais, locais e específicos que regulam a circulação dos elementos na biosfera e seus componentes estruturais.

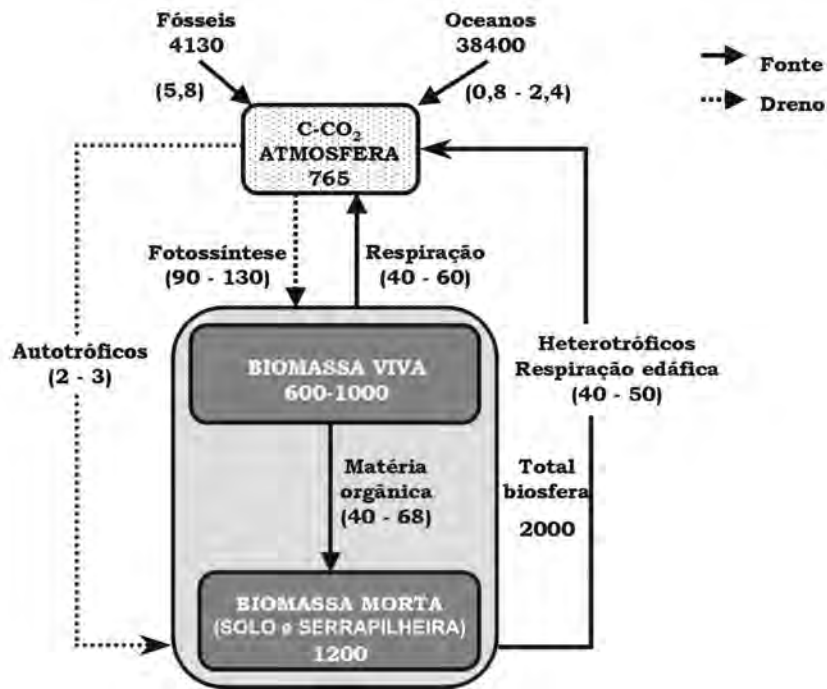


Figura 7.5. Estoque (10^{15} g C) e fluxo (10^{15} g C ano⁻¹) de carbono nos principais componentes da biosfera mostrando as fontes e os drenos de C na atmosfera. (Valores de Bolin & Fung, 1992, e Falkowski et al., 2000.)

Tabela 7.6. Resumo dos processos do ciclo de oxi-redução do carbono.

Processo	Óxico	Anóxico	Organismos responsáveis
- Redução: síntese de compostos orgânicos			
$CO_2 \rightarrow (CH_2O)_n$	+	-	Fotossíntese em algas, cianobactérias e plantas
$CO_2 \rightarrow (CH_2O)_n$	+	-	Quimiolitotrófica bacteriana
$CO_2 \rightarrow (CH_2O)_n$	-	+	Bactérias fototróficas e homoacetogênicas
$CO_2 / (CH_2O)_n \rightarrow CH_4$	-	+	Archaeobacteria metanogênica
- Oxidação: Degradação de compostos orgânicos			
$(CH_2O)_n \rightarrow CO_2$	+	-	Respiração em plantas, animais e microrganismos
$(CH_2O)_n \rightarrow CO_2$	-	+	Respiração anaeróbia e fermentação em microrganismos anaeróbios e bactérias fototróficas
$CH_4 \rightarrow CO_2$	+	-	Metanotrófia bacteriana (sintrofia)

Das concentrações típicas de C e nutrientes nas plantas e microrganismos (**Tabela 7.7**), tem-se que plantas, bactérias e fungos são ricos em nutrientes, constituindo-se em importantes componentes que regulam a eficiência dos processos de ciclagem no sistema solo-planta onde o fluxo total de nutrientes pode atingir 400 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (Tabela 7.2). Quando a fitomassa contém menores quantidades de C e nutrientes que o solo, os elementos contidos nesse último podem ser suficientes para garantir as exigências da vegetação existente se a ciclagem ocorrer satisfatoriamente. Nos ecossistemas florestais dos trópicos, a reciclagem de N, P e K é de 50% a 70%. No entanto, quando o ecossistema sofre interferências antrópicas que afetam os processos da reciclagem, as conseqüências são imediatas. Quando a razão da quantidade total de nutrientes na vegetação em relação ao solo for maior que 1,0, o sistema é pouco sustentável, pois depende essencialmente da reciclagem, e qualquer interferência na vegetação compromete a estabilidade do ecossistema, como ocorre em florestas sob solos arenosos e pobres em reservas nutricionais. Quando esses são desmatados, sofrem intensa perda de nutrientes, tornando-se incapazes de sustentar a recuperação da floresta.

Tabela 7.7. Composição elementar aproximada (% na matéria seca) para organismos do solo, plantas e restos vegetais. Os valores são as faixas normalmente encontradas na literatura.

Elemento	Bactérias	Fungos	Minhocas	Plantas	Restos vegetais
C	45-55	44-63	46	45-50	50-60
N	5-19	1,3-10	10	1,5-5,0	0,5-4,0
P	0,2-5	0,2-1	0,9	0,2-0,4	0,1-1,0
S	0,09-1	0,09-0,3	0,8	0,2-1,0	0,2-2,0
K	1-2	0,6-1,5	1,1	0,1-2,5	0,4-4,0

7.2.2. Emissão e seqüestro de carbono no solo

Como é amplamente sabido, as ações antrópicas no planeta têm causado aumento no C-CO₂ e C-CH₄ da atmosfera, sendo o incremento anual hoje considerado uma taxa próxima de 1%. Isso tem forte relação com o controle térmico da Terra, como foi reconhecido há mais de 100 anos por Arrhenius e, atualmente, conhecido como *efeito estufa*, para o qual, estima-se que o enriquecimento de CO₂ da atmosfera contribui com cerca de 50%. Os níveis de gases de C na atmosfera aumentaram de 280 mg L⁻¹ em 1850 para 370 mg L⁻¹ no final da década passada, correspondendo ao acréscimo de 31% para C-CO₂ e de 145% para C-CH₄. Do aumento de C-CO₂ de 506 bilhões de toneladas, as mudanças no uso da terra e o cultivo do solo contribuíram com cerca de 1/3 do aumento global (136 bilhões de toneladas) e cerca da metade dessa emissão (78 bilhões de toneladas) resultam da oxidação da matéria orgânica do solo. Parte do excesso de C da atmosfera é absorvida pelos oceanos e pela biosfera terrestre representada pelos organismos fotossintetizantes (plantas). De modo simplificado, pode-se dizer que o ciclo do C resume-se a dois grandes fluxos principais que controlam o balanço desse

elemento ou desbalanço de CO₂: a fotossíntese e a respiração (Tabela 7.6). Os cálculos das estimativas de ambos os fluxos são muito variáveis (Figura 7.5). Em termos médios, considera-se que 90 Gt de C são trocadas a cada ano, e algo próximo de equivalência entre os dois processos, sendo o enriquecimento global de gases da atmosfera é devido, principalmente, à queima de combustíveis fósseis e ao desmatamento. Na verdade, a vegetação é importante componente regulador deste ciclo, representando um dreno de C-CO₂ da atmosfera, mesmo em florestas em clímax como aquela do estudo apresentado na figura 7.4. Medições seriadas recentes indicam que a biosfera terrestre e os oceanos seqüestram em torno de 1,4 Gt por ano de C adicionado pela queima dos fósseis, que, de 1991 a 1997, foi de 6,5 Gt ano⁻¹ de CO₂ na atmosfera (Battle et al., 2000). Protocolos internacionais tentam impor limite ao crescimento das taxas de emissões de CO₂ para conter as conseqüências ambientais e ecológicas dessa mudança, como é o caso do protocolo de Kioto.

O destino de grande parte do C fotoassimilado pelas plantas é o solo. Estima-se que a quantidade de C contida na sua matéria orgânica é de 1.200 Gt e pouco mais elevada se incluir as reservas de turfas. Esta é, portanto, uma quantidade quase duas vezes maior que o C da atmosfera (765 Gt) e quase três vezes o da biomassa terrestre (500 a 800 Gt). O *input* anual de C para o solo é de 40 a 68 Gt ano⁻¹, o que corresponde a quase 15% de CO₂ atmosférico, enquanto a biota terrestre respira globalmente de 40 a 60 Gt ano⁻¹ de CO₂. Quantidade próxima desta é depositada como restos orgânicos no solo (40 a 68 Gt ano⁻¹). A decomposição da MOS libera 2 a 5 Gt e, a queima de fósseis, cerca de 6,5 Gt ano⁻¹. Especialistas estimam que, atualmente, 3,4 Gt de C acumulam-se anualmente na atmosfera. Segundo o Painel Internacional sobre Mudança Climática (IPCC) das Nações Unidas, enquanto o desmatamento contribui com 1,8 Gt ano⁻¹ de C para a atmosfera, o plantio de árvores, a regeneração e a proteção de florestas e a melhoria das práticas agrícolas poderiam contribuir com o seqüestro de mais de 1,0 Gt ano⁻¹ de C, o que equivale de 5 a 15% da emissão global resultante da queima de combustíveis fósseis. Estudos recentes apontam para valores potenciais mais elevados para o seqüestro de C no solo (Lal, 2004). A adoção do cultivo mínimo e o controle da erosão do solo podem contribuir com a retirada de 125 Tg (1Tg=10¹² g) de C ano⁻¹ da atmosfera. A adubação e a eliminação de queimadas das pastagens e de florestas podem reter outras 410 Tg de C ano⁻¹. Portanto, reter carbono no solo, além de melhorar sua qualidade, pode representar importante serviço ambiental. A adoção de cultivo conservacionista do solo pode ter taxa de seqüestro de CO₂ próximo a 1 Mg C ha⁻¹ ano⁻¹. O potencial e a taxa de seqüestro de carbono do solo variam muito (**Tabela 7.8**), dependendo do ecossistema e do uso da terra. Estimativas indicam que o seqüestro de C no solo pode atingir 1,2 Gt C ano⁻¹. Tal seqüestro tem valor econômico no chamado *trading of carbon credits* que é a “comodificação” dessa função do solo cujo valor médio é de US\$1,0/t CO₂. Esse valor é muito baixo e poderá dobrar ou triplicar à medida que as quotas de emissões se tornam mais restritivas e os impactos negativos da emissão de gases mais evidentes e mais bem avaliados. Acredita-se que o valor global desse serviço representaria 1,2 bilhões de dólares.

Tabela 7.8. Potencial de seqüestro de carbono no solo em diferentes ecossistemas e práticas de uso (Modificado de Lal, 2004).

Ecossistemas	Área total -----bilhões ha-----	Potencial de seqüestro C -----Gt C ano ⁻¹ -----	Taxa -----kg C ha ⁻¹ ano ⁻¹ -----
Solos cultivados	1,35	0,4 a 0,8 Cultivo conservacionista Culturas de cobertura Uso de esterco Diversificação de culturas Agroflorestas	100-1000 50-250 50-150 50-200 100-200
Pastagens e pradarias	3,70	0,01 a 0,3 Vários sistemas	50-150
Restauração de áreas degradadas e solos desérticos	1,10	0,2 a 0,4 Controle da erosão Reflorestamento Conservação da água	50-200 50-300 100-200
Solos irrigados	0,27	0,01 a 0,03 Drenagem Controle da salinidade Uso eficiente da água	100-200 60-200 100-200
	Solos mundiais	0,4 a 1,2 (5 a 15% da emissão)*	50-1000

* Global de C dos combustíveis fósseis

E importante salientar que cerca de 30% de C dos solos mundiais encontram-se nos solos dos trópicos, onde existe grande pressão sobre as terras cultivadas e florestas nativas, as quais, se destruídas, contribuirão duplamente para o aumento de C atmosférico; haverá redução na captação de C-CO₂ e aumento na sua liberação via maior oxidação. Tanto o cultivo intensivo do solo quanto o desmatamento causam drástica redução nos teores de C do solo, e conseqüente queda da produtividade e degradação do solo, devendo, por isso ser evitados ou corretamente planejados. Como o solo desempenha função crucial no ciclo do carbono, as possibilidades de manejá-lo adequadamente para torná-lo dreno de carbono da atmosfera e não fonte são atualmente muito enfatizadas. Por exemplo, solos sob plantio direto podem seqüestrar em torno de 40% mais C que aqueles sob cultivo convencional, representando alternativa para retirar parte do excesso de CO₂ da atmosfera, tornando o cultivo agrícola mais conservacionista. Para os EUA, Schlesinger (1999) estimou que a adoção do plantio direto pode seqüestrar todo CO₂ emitido pelas atividades agrícolas e também até 1% do emitido pela queima de combustíveis fósseis. Segundo o autor, mudanças no uso da terra poderiam retirar 400 a 800 Tg ano⁻¹ de C da atmosfera naquele país. Em solos representativos do cerrado brasileiro, tem sido estimado um influxo

entre 0,51 e 1,84 Mg C-CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹, quando esses não são revolvidos pelo cultivo convencional, o que os torna um considerável seqüestrador de C. Em termos genéricos, considera-se que, para cada tonelada de C retido no solo, correspondem de 3 a 4 Mg de C-CO₂ seqüestrados da atmosfera. Deve-se levar em conta que o cultivo agrícola requer mecanização, corretivos e uso de fertilizantes, especialmente dos nitrogenados para aumentar a produção de biomassa vegetal e que, para isso, consome-se energia e libera-se CO₂. Apenas o gasto com fertilizantes nitrogenados corresponde a, aproximadamente, 23% de todo o C seqüestrado no solo, o que deve ser somado a outros *inputs* necessários para conduzir a lavoura, liberando mais C-CO₂.

Um estudo desenvolvido por pesquisadores da Michigan State University (EUA) aborda de maneira nova e holística o balanço de gases do efeito estufa em solos agrícolas (**Tabela 7.9**). Nesse estudo, verificou-se que somente a retenção de C é insuficiente para estabelecer se o solo atua como fonte ou dreno de C-CO₂. De fato, práticas de manejo, como o cultivo mínimo e culturas perenes, retêm grande quantidade de C no solo, mas podem consumir combustíveis e fertilizantes e outros insumos que superam, em termos equivalentes, a quantidade de C-CO₂ drenada, como o plantio direto. Para estabelecer o balanço geral da atividade agrícola, os autores empregaram o conceito de “potencial de mitigação do aquecimento global” (PMAG) que corresponde ao balanço líquido entre C-retido e C-CO₂ (equivalente) total emitido. Verifica-se que o plantio direto avaliado em Michigan, reduziu a emissão de C, mas não resultou em contribuição líquida para a mitigação de CO₂ atmosférico. Embora este libere 100 unidades de CO₂ equivalente (g m⁻² ano⁻¹) a menos que o plantio convencional, ainda emite 14 unidades de CO₂. A alfafa, que dispensa fertilizante nitrogenado por ser fixadora de N₂, a floresta de *Populus* sp. e as comunidades vegetais em início de sucessão, tiveram PMAG favorável, atingindo o valor máximo de 211 g m⁻² ano⁻¹, o que equivale a retirada de mais de 2.000 kg de C-CO₂ ha⁻¹ ano⁻¹.

Solos agrícolas malmanejados consomem materiais geradores de CO₂, perdem matéria orgânica e representam fonte de C para a atmosfera. Solos virgens perdem de 20 a 70% da sua MOS original quando colocados em cultivo, mas práticas agrícolas apropriadas podem retardar ou minimizar essas perdas (**Tabela 7.10**). Se adotarmos o modelo cinético simplificado da dinâmica do C ($dC/dt = -kC + a$), onde C é o conteúdo de carbono no solo no tempo t , k , a constante da taxa de decomposição, e a , a constante de adição de carbono por unidade de tempo, tem-se que as diferenças entre kC e a indicarão se o solo atuará como emissor ou seqüestrador de C. Em um sistema de produção agrícola onde o produto de kC for maior que a , o solo emitirá CO₂ e gases nitrogenados que, somados àqueles dos insumos de cultivo, representarão enorme fonte de CO₂ para a atmosfera. Quando o solo for manejado de modo a permitir que kC seja menor que a , o solo reterá C e N em formas orgânicas, mas o benefício disso dependerá do balanço em equivalente C-CO₂, como mostra a tabela 7.9. As práticas de manejo do solo recomendadas para aumentar sua capacidade de seqüestrar o carbono e de reduzir a emissão acham-se resumidas na tabela 7.10. Para seqüestrar carbono no solo, tem-se que manter a matéria orgânica, o que ocorre em função do manejo aplicado, conforme mostrado na **figura 7.6**.

Tabela 7.9. Retenção de C no solo, *inputs* agronômicos, fluxos de gases do efeito estufa e potencial de mitigação do aquecimento global (PMAG) em diferentes sistemas de uso do solo em Michigan (EUA) (Robertson et al., 2000). Dados são unidades de C-CO₂ equivalentes em g m⁻² ano⁻¹ e os sinais negativos indicam retirada de C da atmosfera.

Uso do solo	C-CO ₂ equivalente			PMAG**	
	C solo	Inputs*	N ₂ O		
Culturas anuais					
Convencional	0	66	52	-4	114
Plantio direto	-110	73	56	-5	14
Cultivo mínimo	-40	48	60	-5	63
Orgânico	-29	19	56	-5	41
Culturas perenes					
Alfafa	-161	88	59	-6	-20
Poplar	-171	2	10	-5	-105
Comunidade sucessional					
Inicial	-220	0	15	-6	-211
Intermediária (cultivado)	-32	0	16	-15	-31
Intermediária (não cultivado)	0	0	18	-17	1
Floresta	0	0	21	-25	-4

* Fertilizantes e combustível

** Conversão em unidade equivalente C-CO₂ = 1; N₂O = 280 e CH₄ = 56. PMAG = diferença entre o C retido no solo e o emitido por fertilizantes e combustíveis para manter a cultura.

Tabela 7.10. Práticas de manejo do solo em relação à dinâmica (fonte e dreno) do carbono e liberação de gases das mudanças climáticas.

Aumenta a emissão de gases	Armazena carbono e nutrientes no solo
<ul style="list-style-type: none"> • Manejo do solo e sistemas de cultivos inadequados (cultivo convencional). • Drenagem dos solos orgânicos ou ricos em matéria orgânica. • Práticas agrícolas que facilitam a erosão e a degradação do solo. • Cultivos inundados que favorecem a produção de CH₄. • Desmatamentos e queimadas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Manejo conservacionista do solo e da cultura (Ex. plantio direto, rotação com leguminosas). • Uso de cobertura vegetal do solo e adubação verde. • Uso correto dos insumos (produção sustentável). • Reflorestamento e revegetação de áreas marginais. • Conservação do solo e da água. • Eliminação da prática das queimadas. • Devolução ao solo dos resíduos orgânicos.

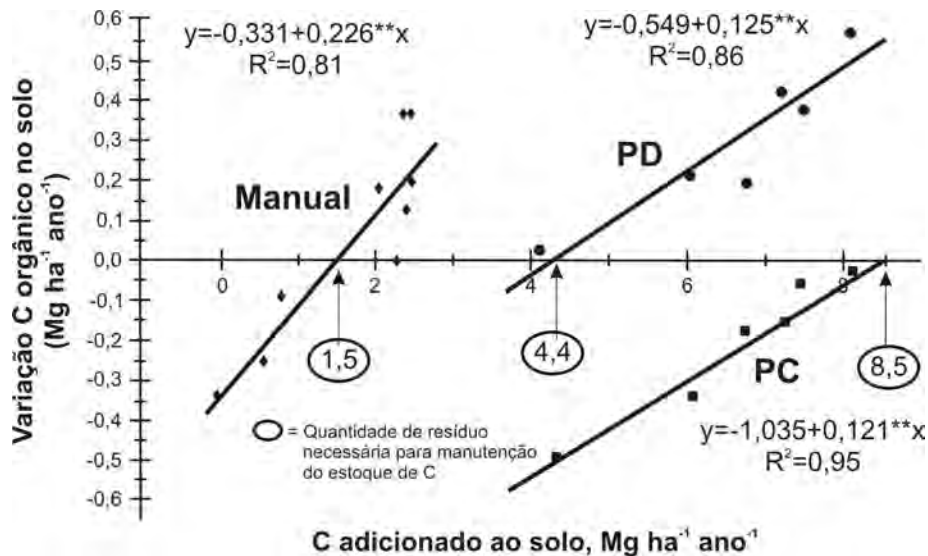


Figura 7.6. Variações dos estoques de carbono orgânico total no solo em função das quantidades de C fotossintetizado adicionado ao solo em diferentes sistemas de manejo (Manual = revolvimento manual; PC = preparo convencional; PD = plantio direto). (Mielniczuk et al., 2003.)

O estoque típico de COS varia de 50 a 150 Mg ha⁻¹ a 1 m de profundidade e as perdas alcançam 20 a 80 Mg ha⁻¹, atingindo de 60 a 75% do estoque original, o que corresponde a uma perda histórica (acumulada) de 55 a 78 Gt. O solo deve ser manejado de modo a proteger contra o esgotamento do COS, e isso se fundamenta nas práticas a adotar na sua superfície e seus respectivos efeitos sobre a sua atividade biológica, como já foi amplamente abordado neste texto. Para manter o solo seqüestrando carbono, recomenda-se:

- não remover os restos culturais do solo, mantendo-os na superfície como cobertura morta;
- evitar o revolvimento do solo, conservando-o sem cultivo mecânico reduzido ao mínimo;
- mantê-lo sempre coberto por vegetação com abundante sistema radicular e a máxima diversidade possível;
- praticar rotação de culturas, pousios e rotação no uso de agroquímicos para ampliar a diversidade biológica no agrossistema;
- adotar práticas de manejo integrado para maximizar o uso de recursos e, assim, minimizar a aplicação de insumos químicos: Ex: reciclagem de resíduos, controle biológico e uso de culturas e microrganismos biofertilizadores;
- promover a integração de sistemas de produção agrosilvopastoril (integração agricultura-pecuária);
- propiciar ações para recuperação de solos degradados ou marginais.

O esgotamento do carbono orgânico do solo (COS) tem conseqüências ecológicas e econômicas (**Figura 7.7**), pois a matéria orgânica tem numerosas funções locais para o solo (ver capítulo 5) e fora dele, tornando-se um valioso recurso natural com as seguintes funções para a sociedade:

a) funções locais (solo): melhoria das propriedades funcionais do solo (fornecimento de nutrientes, substrato microbiano, propriedades químicas e físicas;

b) funções fora do local: contribui para a redução de sedimentos nos corpos d'água, ação filtrante de poluentes químicos, biodegradação de substâncias tóxicas, efeito tampão na emissão de gases do efeito estufa e estabilidade da produção agrícola que tem efeitos econômicos e sociais.



Figura 7.7. As inter-relações e as conseqüências do esgotamento da matéria orgânica do solo: de características do solo e produtividade das culturas a problemas ambientais e sociais. (Com base em Lal, 2004.)

Outro aspecto interessante no contexto da emissão de gases do efeito estufa e a atividade biológica do solo é a relação com a temperatura. A decomposição libera gases do efeito estufa e contribui para a elevação da temperatura, que, por sua vez, pode estimular a atividade dos decompositores em solos de regiões frias. O aquecimento do solo pode elevar 40% sua respiração no primeiro ano (Lug et al., 2001) e estudos em condições controladas feitos por Joergensen et al. (1990), mostraram que a elevação da temperatura de 15 para 35°C aumentou acentuadamente a liberação acumulada de C-CO₂ do solo ao longo de 250 dias de incubação. Quando a temperatura foi elevada de 25 para 35°C, triplicou a quantidade de C mineralizado, excedendo o previsto na equação de Van't Hoff (Q_{10}) que, geralmente, se situa em torno de 2,0. Solos de clima frio também apresentam valores mais elevados de liberação de CO₂ que solos tropicais quando se eleva a temperatura. Grace & Grisi (1992) estudaram essa relação, verificando que ao final do período de incubação a 35°C a biomassa dos solos ingleses foi reduzida de 70% a 80%, enquanto a dos solos brasileiros sofreu redução de 40% a 60%. Solos ingleses com temperatura elevada tiveram respiração específica da biomassa duas a três vezes mais elevada que a dos solos brasileiros. Essa e outras evidências apontam para “maior adaptação” da microbiota dos solos tropicais a temperaturas elevadas e certa “sensibilidade” das populações microbianas dos solos do hemisfério norte ao aumento de temperatura. Assim, é razoável supor que, a cada aumento da temperatura global da atmosfera, corresponderia maior liberação de C-CO₂ pelos solos das regiões temperadas, onde, inclusive, existe maior quantidade de carbono armazenado no solo, representando alto potencial de aceleração do impacto nas mudanças globais do clima. Entretanto, os efeitos da elevação da temperatura podem ser diferenciados até dentro do mesmo clima. Respostas à elevação da temperatura nas transformações de C em diferentes ecossistemas revelaram que o fator Q_{10} médio para o cerrado brasileiro é de 1,6, enquanto o da floresta Amazônica seria 2,3, correspondendo a um impacto da temperatura 40% maior na floresta (Meir et al., 1996). Considerando que o efluxo de CO₂ do solo é, em média, 3,0 e 5,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no cerrado e na floresta respectivamente, tem-se que o aquecimento global terá mais impacto na floresta que no cerrado, e, quando se considera a dimensão da floresta Amazônica e outros possíveis impactos ecológicos e funcionais, são facilmente previsíveis as conseqüências adversas desse efeito estufa na Amazônia.

Em conseqüência do aquecimento global, atualmente, com aumento estimado entre 0,2 e 0,5°C por década e do efeito marcante da temperatura na decomposição da MOS, espera-se que ela aumentará a taxa de decomposição da MOS num efeito cascata. Segundo Jenkinson et al. (1991), persistindo as atuais taxas de liberação de C-CO₂ e elevação de temperatura ao longo de 60 anos, haverá um aumento na emissão de CO₂ do solo de 19%. Apesar da baixa precisão e restrições do modelo empregado neste estudo, alerta-se para um problema agravante do efeito da elevação da temperatura no aquecimento global, evidenciando os riscos de um processo retroalimentado com sérias conseqüências. Contudo, há evidências de que a elevação do CO₂ da atmosfera pode inibir a decomposição microbiana devido à maior absorção de N do solo pela vegetação (Hu et al., 2001). Esse mecanismo, que tem suas raízes nas transformações bioquímicas realizadas pela comunidade microbiana do solo, contribuirá para amenizar os impactos do aquecimento global.

Outro aspecto de grande importância no ciclo de C é a produção e absorção de CH₄ no solo, (Figura 4.10) e o acúmulo de C em solos anaeróbios ou encharcados. Solos anaeróbios são importan-

tes reservatórios de C global e, até recentemente, acreditava-se que o acúmulo nessas condições ocorria devido à ausência de metabolismo aeróbio. Entretanto, trabalho desenvolvido por Freeman et al. (2001) demonstrou que a anaerobiose tem pouco efeito na atividade das enzimas hidrolíticas que são responsáveis pela decomposição dos materiais orgânicos depositados em solos encharcados. O que ocorre, de acordo com esses pesquisadores, é que a atividade da enzima fenoxidase é muito inibida em condições anóxicas, permitindo o acúmulo de compostos fenólicos. Esses, por sua vez, são potentes inibidores das enzimas hidrolíticas responsáveis pela biodegradação orgânica. Desse modo, o fator controlador da decomposição ou acúmulo de materiais orgânicos em ambientes turfosos anóxicos atua sobre uma única enzima, fenoxidase, e não em todo o metabolismo microbiano degradador, como se pensava.

Na respiração anaeróbia em condições muito redutoras (- 200 mV), ocorre a produção de CH_4 , o chamado gás dos pântanos, que, na verdade, é produzido, mesmo que temporariamente, em solos aeróbios geralmente em microssítios anaeróbios. No entanto, mesmo em solos agrícolas aerados atuam como dreno de CH_4 da atmosfera através de mecanismos de simbiose, que é uma interação metabólica intermicrobiana com bactérias metanotróficas (**Figura 7.8**). Em condições anaeróbias, os microrganismos fermentadores produzem ácidos graxos, compostos aminados e aromáticos, utilizados por redutores de hidrogênio (H^+), que o usam como aceptor de elétrons, formando H_2 e CO_2 como fonte de C pelas bactérias metanogênicas.

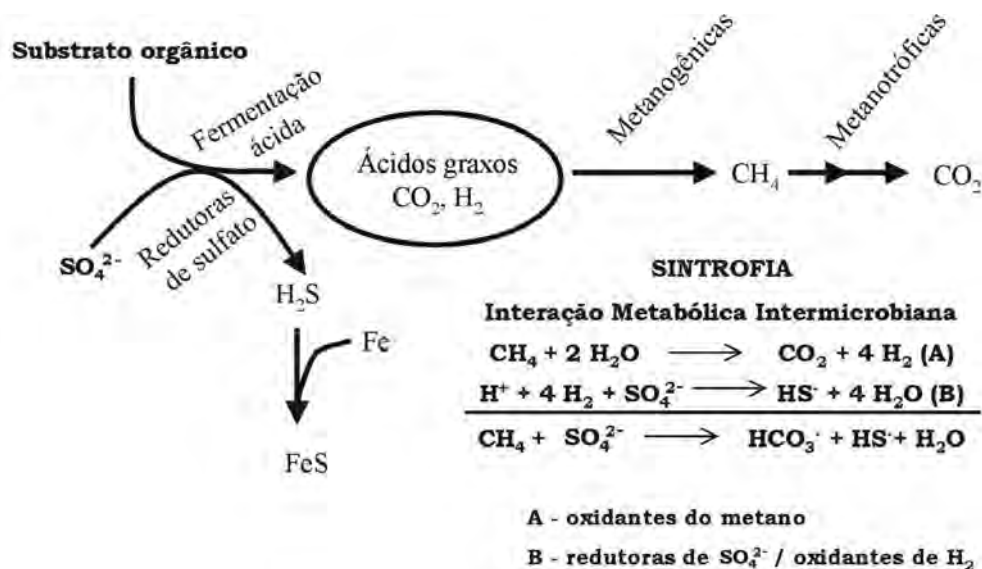


Figura 7.8. O processo sintrófico da produção de CH_4 e sua oxidação no solo.

Estima-se que 590 Tg de CH_4 são geradas por ano, sendo sua maior parte (acima de 80%) de origem biogênica produzida nos seguintes ecossistemas (em Tg ano⁻¹): terras encharcadas 115, arroz inundado 60, cupins 20, fermentação entérica e dejetos animais 105, tratamento de esgoto e lixões 66. Destaca-se a produção em áreas inundadas que totaliza 175, representando de 5 a 20% da emissão total desse gás. No entanto, até 75% do CH_4 produzido em áreas cultivadas com arroz pode ser reoxidado no ambiente aeróbio na rizosfera, facilitando esse processo. O CH_4 é produzido em zona muito reduzida e difunde-se para a zona aerada, onde é convertido em CO_2 . Esse processo é feito pelas bactérias aeróbias que consomem CH_4 (metanotróficas), como as dos gêneros: *Methylomonas*, *Methylococcus* e *Methylosinus*, algumas também com capacidade de fixar o N_2 atmosférico. Estima-se que esse processo drena da atmosfera 30 Tg de CH_4 ano⁻¹. A população de metanotróficas correlaciona-se positivamente com o teor de CH_4 no solo, requer NO_3^- e NO_2^- e são inibidas por altos teores de NH_4^+ ; relacionam-se, portanto, com as nitrificantes. Além desses fatores, a produção de metano é muito influenciada pela temperatura, atingindo o máximo com 35°C. Portanto, assim como ocorre com os heterotróficos decompositores, o aquecimento global pode favorecer ainda mais a produção desse gás. Estudos realizados no Brasil mostram que a emissão de CH_4 elevou-se de 2,9 kg CH_4 ha⁻¹ dia⁻¹ a 15°C para 9,5 quando a temperatura atingiu 35°C, correspondendo à elevação de 3,2 vezes na produção desse gás (Embrapa – CNPMA, relatório nº 1, 1997). De acordo com esses estudos, o Brasil contribui com apenas 2,5% do total de CH_4 emitido no mundo.

7.2.3. A reciclagem de materiais de matriz orgânica

A reciclagem é, atualmente, uma das mais importantes estratégias para reduzir o impacto ambiental da chamada “vida moderna” e buscar um desenvolvimento sustentado. Entre os inúmeros materiais recicláveis, têm-se aqueles ricos em substâncias orgânicas de origem doméstica, agrícola, urbana ou industrial, que, geralmente, têm como destino mais comum a disposição no solo. Apesar de ricos em carbono e outros elementos, dependendo de sua origem, esses materiais podem conter substâncias orgânicas e elementos químicos tóxicos aos seres vivos e processos biológicos do solo. Em muitos casos são submetidos a tratamentos específicos como estabilização química em reatores ou compostados antes de dispostos no solo. Uma lista parcial de resíduos normalmente depositados no solo encontra-se na **tabela 7.11**, que mostra também suas respectivas origens, características gerais e específicas em relação aos efeitos no solo.

Ao serem dispostos no solo, dependendo da sua composição química, os materiais carbonáceos sofrerão decomposição, ocorrendo a liberação de gases e outras substâncias que podem impactar o meio ambiente e comprometer a saúde dos seres vivos. Por isso, sua reciclagem é regulamentada e obedece a normas específicas de biossegurança. Das suas transformações, ocorrem processos que merecem atenção especial como:

Tabela 7.11. Origem e principais características dos resíduos orgânicos normalmente reciclados no solo (Modificado de Tedesco et al., em Santos & Camargo, 1999).

Resíduo	Origem	Característica	
		Geral	Específica
Vinhaça	Destilação de fermentados.	Baixo pH, elevado DBO e DQO.	Alto teor de K e MO, efeito fertilizante e corretivo.
Curtume	Processamento de couro.	Lodo adensado com pele rico em Cr.	7% de N-orgânico (10-15% mineralização) e efeito corretivo do solo
Petroquímico	Refinarias e petroquímica.	Borra oleosa e orgânicos diversos.	Elevado teor de MO, nutrientes e metais pesados e poluentes orgânicos.
Lodo esgoto	Estação de tratamento de efluentes.	pH neutro, 60 a 70% sólidos e 30% material orgânico e metais pesados.	Aumenta MO, fonte de N e micronutrientes e condicionador.
Composto lixo	Estação de tratamento de lixo.	Material humificado e baixa C:N.	Fonte de nutrientes, corretiva e condicionador.
Estercos	Criações de animais.	Cama aviária, currais e confinamentos.	Fontes de MO, nutrientes e condicionador do solo.
Frigoríficos	Restos de animais.	Farinhas (ossos, sangue, cascos, chifres).	Fonte de nutrientes (N), difícil decomposição.
Tortas vegetais	Agroindústrias.	Celulósicos, lenhosos e ricos em proteínas.	Teores elevados de N e alta mineralização.

- a) liberação de gases malcheirosos e metais pesados que apresentam riscos de contaminação;
- b) liberação ou formação de orgânicos poluentes e de compostos que podem atuar como agentes mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos;
- c) contaminação do solo, alimentos e corpos d'água por nutrientes inorgânicos poluidores como nitratos, fosfatos e metais pesados;
- d) transmissão de doenças para o homem e animais e atração de insetos indesejáveis;
- e) liberação de odores desagradáveis e com reações alérgicas, tais como metabólicos microbianos e amônia.

Os riscos oferecidos por fatores desses resíduos têm sido bastante estudados no mundo todo, porém são ainda pouco conhecidos. Exemplos de alguns fatores com suas respectivas concentrações críticas e bases para a avaliação dos riscos encontram-se na **tabela 7.12**.

Merece destaque especial a reciclagem de lixo domiciliar, que tem basicamente composição orgânica, cuja produção é de 500 a 700 g habitante⁻¹ dia⁻¹. Estimativas apontam que o Brasil perde quase 5,0 bilhões de dólares ano⁻¹ por não reciclar seu lixo domiciliar. Há também a produção de lodo de esgoto, originado do tratamento de efluentes, gerando, em média, 40 g de matéria seca por habitante dia⁻¹. O tratamento biológico de esgoto consiste em permitir a atividade microbiana para reduzir, através da remoção, os teores de sólidos, obtendo-se produtos floculados, liberação dos sólidos voláteis e bactérias vivas e células mortas. Esse conjunto de materiais é denominado lodo de esgoto ou “biossólido”. Todo biossólido é considerado lodo, mas nem todo lodo é biossólido, cujo termo é empregado apenas para produto do tratamento biológico do esgoto ou lodo.

Na digestão aeróbia do resíduo, tem-se grande produção de material celular, lodo digerido, CO₂ e NO₃⁻, permanecendo ainda muito material sólido, especialmente orgânicos. Enquanto na anaeróbia, que envolve microrganismos acidogênicos, metanogênicos e solubilizadores, tem-se pequena produção de sólidos e grande liberação de gases, ocorrendo a remoção de grande parte dos sólidos, em torno de 70%. Quando se combinam tratamentos anaeróbios com aeróbios, o último faz o polimento final do material sólido, resultando em pequena quantidade de lodo e remoção até de 90% dos sólidos do esgoto. É importante maximizar a digestão do lodo para reduzir seus odores, altamente indesejáveis e também o volume de materiais sólidos. O tratamento reduz o potencial poluidor do esgoto, mas o lodo ainda mantém ação poluidora, exigindo cuidados especiais. Considerando que o tratamento de esgoto atinja 50%

Tabela 7.12. Exemplos de concentrações críticas de poluentes no solo e principais critérios empregados na sua definição (Cornell, 1999).

Contaminante	mg kg ⁻¹	Principais critérios e riscos
As	<10	Risco de ingestão por crianças.
Cd	<2	Absorção pelas plantas.
Cr	-	Depende da forma. Cr ⁶⁺ é altamente tóxico.
Cu	40-100	Fitotoxicidade (40 para solos arenosos e 100 para solos argilosos)
Pb	300	Ingestão por crianças.
Hg	1	Ecotoxicologia e contaminação da água.
Mo	4	Toxicidade em ruminantes (induz deficiência de Cu).
Ni	25-50	Fitotoxicidade (25 solos arenosos e 50 solos argilosos).
Se	5	Toxicidade para animais.
Ta	1	Absorção pela cultura e lixiviação no solo.
Zn	75-200	Fitotoxicidade (75 solos arenosos e 200 solos argilosos).
Bifenis policlorados	1	Indicação preliminar da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA).

da população brasileira, pode-se estimar uma produção anual de cerca de 1,0 milhão de toneladas de biossólido no Brasil.

Os biossólidos apresentam também carga de substâncias orgânicas sintéticas (xenobióticas) muitas em concentrações geralmente abaixo do limite de detecção dos procedimentos analíticos. São conhecidos em torno de 70 compostos potencialmente perigosos e em concentrações detectáveis no biossólido. Isso, obviamente, depende da origem do resíduo e inclui representantes dos seguintes grupos: compostos aromáticos e aminas alquiladas, dioxinas e furanos, halogenados alifáticos, pesticidas clorados, aromáticos monocíclicos, fenóis, ésteres fosfatados e fitalados, hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) e bifenis clorados (PCBs). Muitas dessas substâncias oferecem grandes riscos ambientais e, por apresentar baixa degradabilidade, podem acumular-se no solo ou na cadeia trófica.

Além da carga orgânica, o biossólido contém concentração elevada de N-mineral e outros elementos poluidores como os metais pesados. Embora sua função como condicionador de solo e fonte de nutrientes seja bem conhecida, seu valor comercial ainda não está bem estabelecido. Com base nos teores de N, alguns especialistas indicam valores agrônômicos até de R\$10,00 por tonelada base seca. Biossólidos do Brasil têm concentrações típicas médias de 250 g de matéria orgânica decomponível, 80 de N, 10 de P e 22 de Ca por quilograma de matéria seca. O K é geralmente baixo porque é solúvel e se perde nos efluentes durante o tratamento e, por isso, o uso de biossólidos na fertilização do solo precisa ser suplementado com K e, às vezes, com P. Um exemplo de resposta à aplicação de biossólido é apresentado na **figura 7.9**, onde a aplicação de uma dose média de 10 Mg ha⁻¹ de biossólido base seca, complementada com K₂O, em substituição ao fertilizante nitrogenado e 70% do fosfatado, foi suficiente para manter a produtividade média do milho, alcançada com a adubação mineral completa.

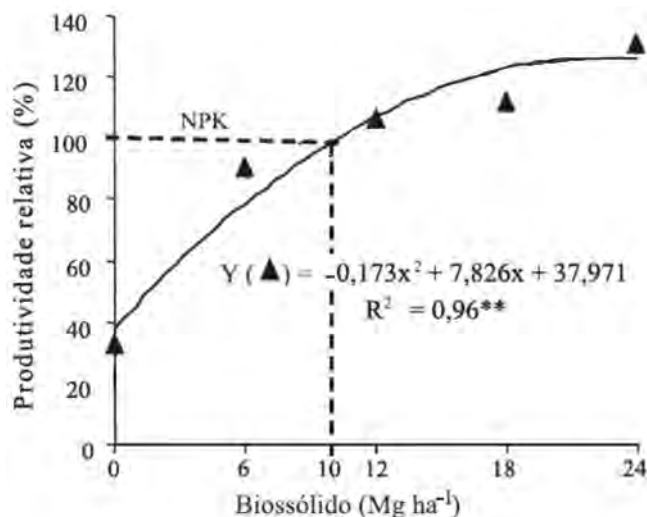


Figura 7.9. Produtividade relativa (% da adubação mineral) do milho em resposta a doses crescentes (base seca) de um biossólido industrial. (Trannin et al., 2005.)

A aplicação em solos agrícolas é geralmente alternativa viável para disposição final do lodo ou bio-sólido. Nesse caso, aplicam-se, geralmente, entre 5 e 10 Mg ha⁻¹ de material, desde que se obedea às normas técnicas específicas e às restrições legais, e o material seja classificado quanto ao risco biológico e químico. Um exemplo é a norma 40CFR da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) parte 503, que classifica os lodos de esgoto em classe A e B. O classe A pode ser empregado no solo sem nenhuma restrição até mesmo em horticultura, por apresentar baixa carga microbiológica de patógenos, qual seja: coliformes fecais < 1.000 NMP g⁻¹ lodo seco; *Salmonella* < 4 NMP g⁻¹ lodo seco; vírus entéricos < 1 PFU 4 g⁻¹; ovos de helmintos < 1 ovo 4 g⁻¹. O lodo classe B é de uso restrito apenas em grandes culturas e reflorestamento por conter carga maior de patógenos como: coliformes fecais < 2.000.000 NMP g⁻¹ lodo seco sem especificar para os demais patógenos.

As principais fontes de contaminação do lodo são as fezes humanas, que contêm concentrações elevadas de microrganismos patogênicos (bactérias 10⁵ a 10⁹ g⁻¹; ovos de helmintos 10¹ a 10⁴ g⁻¹; cistos de protozoários 10⁴ a 10⁷ g⁻¹ e vírus 10⁷ a 10¹¹ g⁻¹), oferecendo grande risco de contaminação. No lodo esses microrganismos apresentam tendências ao decaimento com o tempo e o próprio sistema de tratamento elimina grande parte desses contaminantes. Geralmente os lodos tratados são submetidos à higienização para eliminar sua carga biológica de patógenos e minimizar os riscos de contaminação. Essas práticas incluem digestão, calagem para elevação do pH, compostagem e pasteurização do lodo, cuja eficácia varia de 50% a, aproximadamente, 100% de redução dos patógenos. No solo, embora fora de seu habitat, os patógenos podem sobreviver por períodos relativamente longos, atingindo vários anos, conforme exemplos dados na **tabela 7.13**, oferecendo, assim, risco ao homem e aos animais, podendo também contaminar água e alimentos e comprometer sua segurança. Nas plantas e raízes que crescem em solos contaminados é comum a sobrevivência de patógenos por vários meses, representando importante rota de contaminação humana.

Quando destinados a solos agrícolas, os materiais orgânicos são geralmente aplicados úmidos na superfície, seguidos de incorporação ao solo, ou em sulcos ou covas de plantio. A quantidade a aplicar é

Tabela 7.13. Sobrevivência de microrganismos patogênicos normalmente encontrados em fezes de animais e lodo de esgoto (Modificado de Soccol & Paulino, 2000).

Patógenos	Período de sobrevivência	
	No solo	Em plantas e raízes
Enterovirus	12 a 100 dias	4 a 60 dias
Coliformes fecais	30 a 90 dias	—
<i>Salmonella</i> sp.	70 a 90 dias	10 a 40 dias
<i>Vibrio cholerae</i>	5 a 30 dias	—
Amebas	10 a 30 dias	3 a 15 dias
<i>Taenia</i> sp.	15 a 30 dias	8 a 30 dias
<i>Toxocara</i> sp.	Até 8 meses	—
<i>Ascaris</i> sp.	Até 14 anos	—

— Não determinado

geralmente determinada pelo teor de N e sua respectiva taxa de mineralização no resíduo, a qual, para a maioria dos tipos de bio sólidos, considera-se de 20% a 30%. Como medida de segurança, alguns parâmetros técnicos já foram estabelecidos para a orientação na aplicação agrícola de bio sólidos. Esses são limites de contaminação por metais pesados no material, limites de concentração de metais no solo e taxa de aplicação e carga máxima, conforme apresentado na **tabela 7.14**. Outros aspectos sobre os efeitos dos metais pesados sobre os microrganismos do solo são apresentados no item 7.6 deste capítulo. No entanto, estudos toxicológicos em laboratório envolvendo microrganismos e processos indicam que os níveis adotados pelos EUA são muito elevados e poderão ter impactos negativos nos microrganismos no campo (Giller et al., 1998). Observa-se que não existe consenso a respeito das concentrações máximas permitidas em solo que recebem aplicações de bio sólido. Na Europa adotam-se valores críticos bem mais rigorosos que os adotados nos EUA. No Brasil ainda se buscam definições sobre esses níveis, mas algumas agências, como a Cetesb-SP e Sanepar-PR tendem a adotar a legislação americana.

Existem normas técnicas rigorosas para a aplicação de resíduos sólidos no solo e, baseando-se nelas, estabelecem-se planos de aplicação e de monitoramento que devem ser aprovados por órgãos ambientais. O plano técnico de aplicação baseia-se em vários aspectos, como:

- a) caracterização do material: além da classificação quanto ao tipo de resíduo, composição, patógenos, matéria orgânica, taxa de mineralização e capacidade de neutralização;
- b) caracterização do local: localização na paisagem, tipo de solo e uso da terra e cultura;
- c) taxa de aplicação: N disponível, metais pesados, teor de outros elementos e carga orgânica;
- d) impactos ambientais: atração de vetores, odores desagradáveis e outros impactos.

Tabela 7.14. Metais pesados em bio sólido (lodo de esgoto) em relação aos teores limites para a aplicação no solo (USEPA e UE - União Européia).

Metal	ETE Barueri ¹	Concentração		Carga máxima ⁴	Taxa de aplicação anual ⁵	Concentração permitida no solo	
		Permitida ²	Recomendada ³			USEPA	UE
		-----mg kg ⁻¹ (base seca lodo)-----		kg ha ⁻¹ ano ⁻¹	kg ha ⁻¹	-----mg kg ⁻¹ -----	
Cd	20	85	20	2	1,9	39	1-3
Pb	101	840	750	15	15	300	< 300
Cu	485	4300	1000	75	75	1500	< 140
Cr	590	3000	-	150	-	1530	< 150
Hg	0	57	16	<1	0,85	17	< 1,5
Ni	239	420	300	21	21	420	< 75
Zn	2127	7500	2500	140	-	2800	< 300

1. Valores para o lodo da ETE de Barueri (SP) em 1996;

2. Concentrações máximas permitidas para aplicação do lodo no solo (USEPA 503);

3. Concentrações recomendadas para uso agrícola (USEPA 503);

4. Carga máxima acumulativa de metal depositado;

5. Taxa de aplicação anual máxima de metais em solos agrícolas;

6. Concentração permitida no solo para os Estados Unidos e União Européia. Serve de base para o monitoramento

Outro aspecto interessante é a reciclagem de resíduos oriundos da produção pecuária. Resíduos de suinocultura, por exemplo, são extremamente poluidores, inclusive com elevada carga microbiológica, representando ameaça para essa atividade econômica em certas regiões, sendo, por isso, objeto de licenciamento ambiental para funcionamento. A reciclagem dos dejetos e resíduos da bovinocultura é também de grande interesse. Para se ter outra dimensão da reciclagem desses resíduos, tome-se como exemplo o rebanho bovino brasileiro de cerca de 190 milhões de cabeças. Considerando que cada animal produz, por dia, 24 kg de esterco com 80% de umidade e composição (%): 0,55; 0,25 e 0,60 de N, P_2O_5 e K_2O respectivamente, correspondendo à produção de 25 milhões de Mg de N, P_2O_5 e K_2O . Essa cifra é muito superior ao que se consome de nutrientes via fertilizantes por ano, que é de 9,6 milhões de Mg de N, P_2O_5 e K_2O . Portanto, a reciclagem natural ou controlada dos resíduos bovinos pode ter grande representatividade para o balanço de nutrientes no País. No entanto, estima-se que apenas em torno de 5% dos animais são disponíveis para coleta dos dejetos, o que reduz consideravelmente a cifra citada para algo próximo a um total de um milhão de Mg de N, P_2O_5 e K_2O . Se todo esse resíduo fosse reciclado, haveria grande economia com fertilizantes. Deve-se considerar que o uso de esterco em excesso no solo pode liberar elementos poluidores e acarretar problemas ambientais como contaminação por NO_3^- como de fato ocorre em várias regiões de países desenvolvidos. Também como sucede com os fertilizantes que liberam CO_2 e gases NxO na produção e no solo, os bovinos, que são ruminantes, produzem grande quantidade de CH_4 que é lançado na atmosfera.

A reciclagem pode contribuir muito para a sustentabilidade do planeta, mas pode também causar problemas se não for técnica e corretamente planejada e conduzida. A disposição no solo de materiais orgânicos, seja como método de disposição final, seja como condicionador de solo, pode representar sérios riscos se a matriz orgânica for rica em elementos químicos ou substâncias poluidoras ou potencialmente tóxicas, ou, mesmo, ser precursoras dessas durante a transformação no solo. Um bom exemplo da situação são os resíduos orgânicos ricos em metais pesados, liberados durante a oxidação orgânica no solo.

7.3 Nitrogênio

7.3.1 Aspectos gerais

O N é um constituinte importante da Terra, principalmente da litosfera, onde está distribuído nas rochas, no fundo dos oceanos e nos sedimentos que contêm 1×10^{23} g de N, representando 98% do N existente. O N em forma gasosa ocorre em concentração de 78% da atmosfera terrestre, que tem um estoque estimado em $3,9 \times 10^{21}$ g de N em forma diatômica (N_2) não combinada, representando o segundo maior reservatório do elemento. Na biosfera, encontram-se entre 2,8 e $6,5 \times 10^{21}$ g de N, estando 96% do total de N orgânico terrestre, na matéria orgânica morta e, apenas 4%, nos organismos vivos. O N da matéria viva encontra-se predominantemente nas plantas (94%), achando-se os 6% restantes nos seres vivos: 4% na microbiota e 2% nos animais. Não existem dados precisos, mas estima-se entre 3 e $5,5 \times 10^{17}$ g de N na MOS e 1,0 a $1,5 \times 10^{15}$ g de N na biomassa microbiana do solo. Por ser o solo o principal elo entre os com-

ponentes da biosfera, esse reservatório de N é de grande importância. A biota terrestre é dominada por materiais vegetais que têm relação C:N média de 150, enquanto a MOS tem a mesma relação reduzida a 15–10, devido às intensas transformações que os resíduos vegetais sofrem no solo, com grandes perdas de C, o que estreita a relação C:N com a idade e transformação do material no solo.

No solo, o N encontra-se distribuído em vários compartimentos com os seguintes valores típicos em kg ha^{-1} : $\text{N}_2 = 11.500$, N-orgânico = 7.250, $\text{N-NH}_4^+ = 10$ e $\text{N-NO}_3^- = 50$, sendo, nas plantas, valores típicos da ordem de 250 kg ha^{-1} . Cerca de 50% de N do solo encontra-se em formas quimicamente estáveis, com os maiores reservatórios muito pouco reativos e com tempo médio de residência estimado em 175 anos, embora algumas frações possam ter valores superiores a 1.000 anos. De todos os elementos que circulam no sistema solo-planta-atmosfera, o que sofre maior número de transformações bioquímicas no solo é o nitrogênio, que apresenta ciclo universal onde se distinguem três subciclos chamados: elementar, autotrófico e heterotrófico (**Figura 7.10**). O subciclo elementar representa a conexão entre as formas vivas e os compartimentos dominantes na Terra e na atmosfera, sendo representado pela desnitrificação e fixação biológica de N_2 . O subciclo autotrófico inclui a atividade das plantas, fotossíntese e formação de compostos orgânicos nitrogenados como substratos primários para os microrganismos heterotróficos, cuja atividade representa o subciclo heterotrófico desse elemento, caracterizado pela mineralização, dissipação de energia da matéria orgânica e produção de formas inorgânicas de N no solo. O N elementar é armazenado na biomassa (animal, planta e microbiana), a partir de N_2 atmosférico e NH_4^+ ou NO_3^- dos outros dois subciclos. Uma porção dessa biomassa é constantemente transformada no reservatório de matéria orgânica morta, sendo parte de N mineralizado e parte nela estabilizado. Todos esses processos que controlam tais transformações são amplamente estudados, sendo aqueles mais influenciados pelos microrganismos do solo listados e identificados na figura 7.10. Para informações adicionais, consultar Stevenson (1982).

Valores típicos encontrados na literatura para fluxos globais de N em processos selecionados e para a absorção total de N pelas plantas encontram-se na **tabela 7.15**. De acordo com essas estimativas, a quantidade de N mineralizado é elevada, 2,5 vezes maior que a quantidade total absorvida pelas plantas. Desses valores globais, estima-se que as plantas absorvam apenas em torno de 40% do N-mineralizado, indicando constantes perdas de N por lixiviação no solo ou por emissão para a atmosfera. Verifica-se, também, que a fixação de N_2 é a principal via de adição de N no sistema solo-planta, contribuindo com mais do dobro do que é aplicado via fertilização mineral. Desnitrificação e lixiviação são os principais processos de perdas de N do solo e, juntos, contribuem com 72% do total de N perdido. Valores típicos estimados para os fluxos via processos mais importantes de adição e perdas de N do solo são:

- a) adição: fixação biológica de N de 50 a 500 kg ha^{-1} , mineralização de 2 a 5% do N-orgânico, reposição pelas chuvas de 5 a $20 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, fertilização de 50 a $400 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$;
- b) perdas: lixiviação até $500 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, erosão do solo 40 a $150 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, extração pelas culturas 10 a 300 kg ha^{-1} , volatilização/desnitrificação 10 a 80% de N aplicado e imobilização no próprio solo 25 a 30% de N aplicado via fertilização.

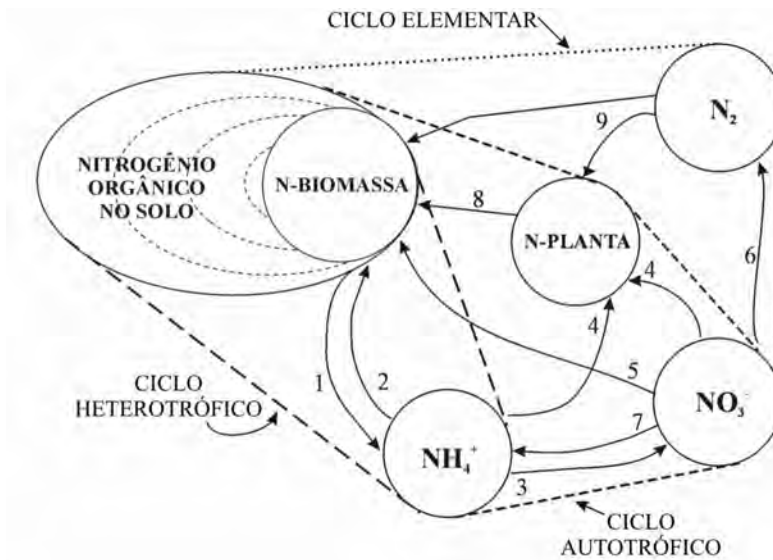


Figura 7.10. Subciclos superpostos, compartimentos e principais transformações biológicas do nitrogênio no solo. 1. Amonificação; 2. Imobilização; 3. Nitrificação autotrófica; 4. Absorção pela planta; 5. Imobilização do nitrato; 6. Desnitrificação; 7. Redução dissimilatória do nitrato a amônio; 8. Decomposição; 9. Fixação de N_2 . (Com base em Wagner & Wolf, 1998.)

As interferências antrópicas sobre o ciclo de N são muito intensas e de grande significado. Por exemplo, o desmatamento e o cultivo intensivo do solo, com culturas não leguminosas, que recebem grande quantidade de N reduzido, exercem profundas influências nas transformações e fluxos desse elemento no sistema solo-planta-atmosfera. O cultivo intensivo acelera a mineralização da MOS, além de promover a aplicação de grande quantidade de N-solúvel como fertilizante nas lavouras, enquanto o plantio direto e o cultivo de leguminosas enriquecem o solo em N (ver capítulo 9).

7.3.2 Mineralização/Imobilização

Como já apresentado, a maior parte de N do solo encontra-se na forma orgânica, normalmente como proteínas, peptídeos, quitina, quitobiose, peptideoglicano, ácidos nucléicos, bases nitrogenadas e uréia. Essas formas representam de 24 a 37% de N-orgânico do solo e são substratos para grande variedade de enzimas que liberam, principalmente, aminoácidos diversos. Os ácidos nucléicos e açúcares amina-dos são também importantes formas lábeis de N, representando de 5 a 10%, enquanto formas complexas contribuem em torno de 50% da reserva de N-orgânico, que, na maioria dos solos, varia de 1.000 a 6.000 kg ha⁻¹. Apesar de grande reserva, apenas uma pequena parte deste N é mineralizável no solo.

Tabela 7.15. Fluxo global do nitrogênio no solo (Modificado de Paul & Clark, 1996).

Processos de adição	Tg N ano ⁻¹	Processos de retirada	Tg N ano ⁻¹
N- mineralizado no solo	3.000	Absorção pelas plantas	1.200
ADIÇÕES TOTAIS:	320 (100)	PERDAS TOTAIS:	312 (100)
Fixação biológica	175 (56)	Desnitrificação	135 (43)
Fertilizantes	85 (26)	Volatilização (NH ₃)	62 (20)
Deposição atmosférica	20 (6)	Lixiviação	90 (29)
Antropogênica	40 (12)	Erosão	25 (8)

Tg = 10¹² g. Números entre parênteses são contribuições relativas de cada processo para o total adicionado ou perdido do solo.

A mineralização do N do solo ocorre, predominantemente, nas frações menos representativas, em termos de quantidade da matéria orgânica do solo, como a biomassa e a sua fração ativa (**Tabela 7.16**). Mais de 60% de N mineralizado do solo vem de frações que representam cerca de 10% do total de N orgânico, enquanto a fração envelhecida de N, que representa cerca da metade de seu estoque, praticamente não mineralizado (Tabela 7.16). Como a maior parte da MOS é composta de frações de difícil decomposição, estudos indicam que apenas cerca de 2 a 5% do reservatório de N-orgânico total do solo é mineralizado a cada ano. Mesmo assim, grande quantidade de N pode ser liberada. Por exemplo, um solo com 0,9 g kg⁻¹ de N, o que corresponde a 2.700 kg de N ha⁻¹ na camada arável, pode mineralizar de 50 a 100 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹, o que seria suficiente para suprir grande parte das exigências da maioria das culturas agrícolas. A quantidade de N mineralizada pode atingir até 380 mg de N kg⁻¹ de solo, o que equivale a 760 kg de N ha⁻¹. As principais formas orgânicas de N no solo encontram-se na **tabela 7.17**, que mostra, também, exemplos de gêneros de microrganismos capazes de fazer a sua mineralização. A contribuição de algumas dessas frações para o N do solo são: N-NH₃ (4,1 a 16,4%), N-amida (3,1 a 7,4), N-hexoamina (4,2 a 23%), N-aminoácido (12,1 a 38,7%) e formas de N não identificadas (14,2 a 28,9%). Para conhecer as formas de N-orgânico no solo e entender a dinâmica das frações, especialistas empregam o fracionamento químico. Conforme discutido em Camargo et al. (1999a), através da hidrólise ácida (HCl 6 mol L⁻¹), têm-se duas frações, cuja representatividade do N-orgânico depende muito do tipo de solo: a) N-hidrolisado, que representa de 52 a 91,6%; b) N-não hidrolisado, de 8,4 a 48%.

A mineralização do N envolve, inicialmente, a ação de peptidases extracelulares (enzimas proteolíticas) que quebram as proteínas, liberando peptídeos e aminoácidos (**Figura 7.11**). Estes são transportados para o interior das células, onde são metabolizados, produzindo NH₃ e compostos orgânicos intermediários como álcoois, aldeídos e ácidos orgânicos, utilizados no metabolismo energético dos decompositores via ciclo dos ácidos tricarbóxicos (ATC) ou por desaminação. A amonificação é definida como a conversão de N-orgânico em amônia, ocorrendo através de diferentes reações de desaminação, como segue:

342 Capítulo 7 · Transformações Bioquímicas e Ciclos dos Elementos no Solo

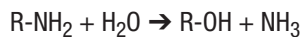
Tabela 7.16. Fracionamento, permanência e contribuição relativa das frações para a mineralização do N no solo (Paul, 1984).

Formas de N	% do N no solo	T _{1/2} anos	Contribuição relativa
Biomassa	5	0,5	30
MOS-ativa	6	1,5	34
Estabilizado	36	22	35
Envelhecida	50	600	1

Tabela 7.17. Formas de N-orgânico, enzimas, produtos e exemplos de organismos envolvidos na mineralização.

N-orgânico	Enzimas	Produto	Microrganismos
Proteínas e peptídeos	Proteinases e peptidases	Hidrolisados e aminoácidos	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i>
Âmidas e amidinas	Aminohidrolases e amidinohidrolases	Aminoácidos, NH ₃ ou uréia	<i>Proteus</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Azotobacter</i>
Aminoácidos	Aminoácido desidrogenase e oxidases	Ácidos orgânicos e NH ₃	Maioria dos microrganismos heterotróficos
Quitina	Quitinase e quitobiase	N-acetil glicosamina	Protozoários, <i>Streptomyces</i>
Peptidoglicanos	Lisoenzimas	N-acetil glicosamina Ácido acetil murânico	Vários microrganismos heterotróficos
Ácidos nucléicos	Nucleases	Nucleotídeos	Vários microrganismos
Uréia	Urease		Microrganismos heterotróficos, fauna e plantas

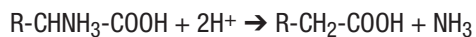
a) desaminação hidrolítica



b) desaminação oxidativa



c) desaminação reductiva



d) desaminação dessaturativa



O NH_3 produzido nessas reações se equilibra no solo com H_2O formando NH_4^+ , que é absorvido ou sofre nitrificação.

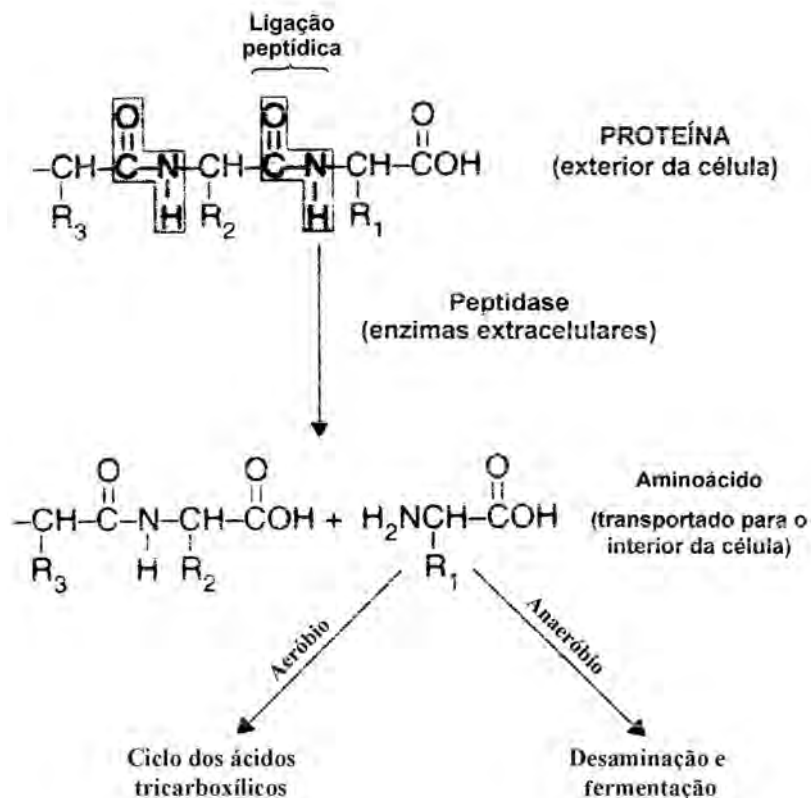


Figura 7.11. Degradação de proteína por hidrólise da ligação peptídica.

A assimilação do N ocorre por duas rotas metabólicas principais representadas na **figura 7.12**, que envolvem compostos orgânicos intermediários oriundos do ciclo de Krebs, α -cetogluturato e aspartato/glutamato. O α -cetogluturato transforma-se em glutamato, que, por ação da glutamina sintetase, o transforma em glutamina (transaminação). Esses produtos aminados são empregados na síntese de aminoácidos essenciais à síntese protéica e à produção de novas células, onde os compostos hidrogenados podem ocorrer em formas complexas. Os microrganismos do solo geralmente contêm relação C:N de 5:1 a 8:1. Como estes contêm, em média, 45%, isto representa teores de N variando de 6 a 9 %. Em geral, considera-se que a biomassa microbiana do solo tem relação C:N média de 10:1. Estes valores mais a eficiência de uso energético dos microrganismos são empregados para calcular o requerimento de N da microbiota do solo, como apresentado no capítulo 5. Este é o principal processo químico responsável pela imobilização biológica de N. As novas células, ao morrer, sofrem lise liberando enzimas no solo e alguns de seus componentes são condensados ou complexados a substâncias húmicas onde o N se estabiliza quimicamente não sendo mais suscetível à mineralização. Os polímeros de açúcares aminados (quitina) e peptídeoglicanos são exemplos de componentes de células microbianas de difícil decomposição, onde o N pode ser estabilizado. Essas substâncias combinam com outros componentes do solo e passam a fazer parte da fração resistente da MOS. Uma parcela do N absorvido pelas plantas é assimilada em forma de proteína vegetal, tornando-se mais tarde proteína microbiana no solo, e parte é novamente reciclada no sistema. Na seqüência do ciclo, o produto da mineralização, NH_3 , converte-se em condições aeróbias a NO_3^- , por meio da nitrificação, podendo ter vários destinos. Por exemplo, em condições de baixo suprimento de O_2 , o N é perdido através da desnitrificação. Caso não haja nitrificação, o N mineralizado acumula-se como NH_4^+ no solo, o que acontece geralmente em condições de redução (anoxia) ou impróprias à nitrificação. Essas e outras transformações do N são estreitamente relacionadas. Quando há mineralização, há também simultaneamente, assimilação de N na microbiomassa, sendo tais processos influenciados pela qualidade do material em decomposição em termos de relação C:N e teor total de N como já discutido no capítulo 4. Considerando-se fixos os fatores ambientais, como temperatura, umidade e aeração, a quantidade de N mineralizada é diretamente associada a N e C orgânico no solo como exemplificado na **figura 7.13**. Com a aplicação de N, ocorre maior consumo de C (maior liberação de CO_2) pelos microrganismos atingindo o pico de biomassa mais rapidamente. A aplicação de N acelera todo o processo aumentando a atividade da população decompositora que acumula mais N na biomassa em resposta à rápida absorção de N fornecido. Resíduos com ampla relação C:N sem a aplicação de fontes desse nutriente têm decomposição muito lenta no solo devido à baixa produção de biomassa causada pelo déficit de N, como discutido no capítulo 5.

Diante da complexidade das transformações de N no solo, especialistas desenvolveram modelos para predição das formas e dinâmicas desse elemento e em resíduos em transformações, assim como para estimar a contribuição de cada fração de N para a mineralização. Um exemplo de resultados da aplicação de tais modelos encontra-se na **tabela 7.18**. Como era de se esperar, verifica-se maior mineralização do N em solo com cultivo convencional do que em sistema de plantio direto, e isso se deve ao efeito estimulante do revolvimento do solo sobre os microrganismos e seus processos oxidativos. As bactérias e seus predadores, as amebas, são os principais responsáveis pela maior mineralização de N no solo cultivado. Os nematóides têm pequena contribuição nessas modi-

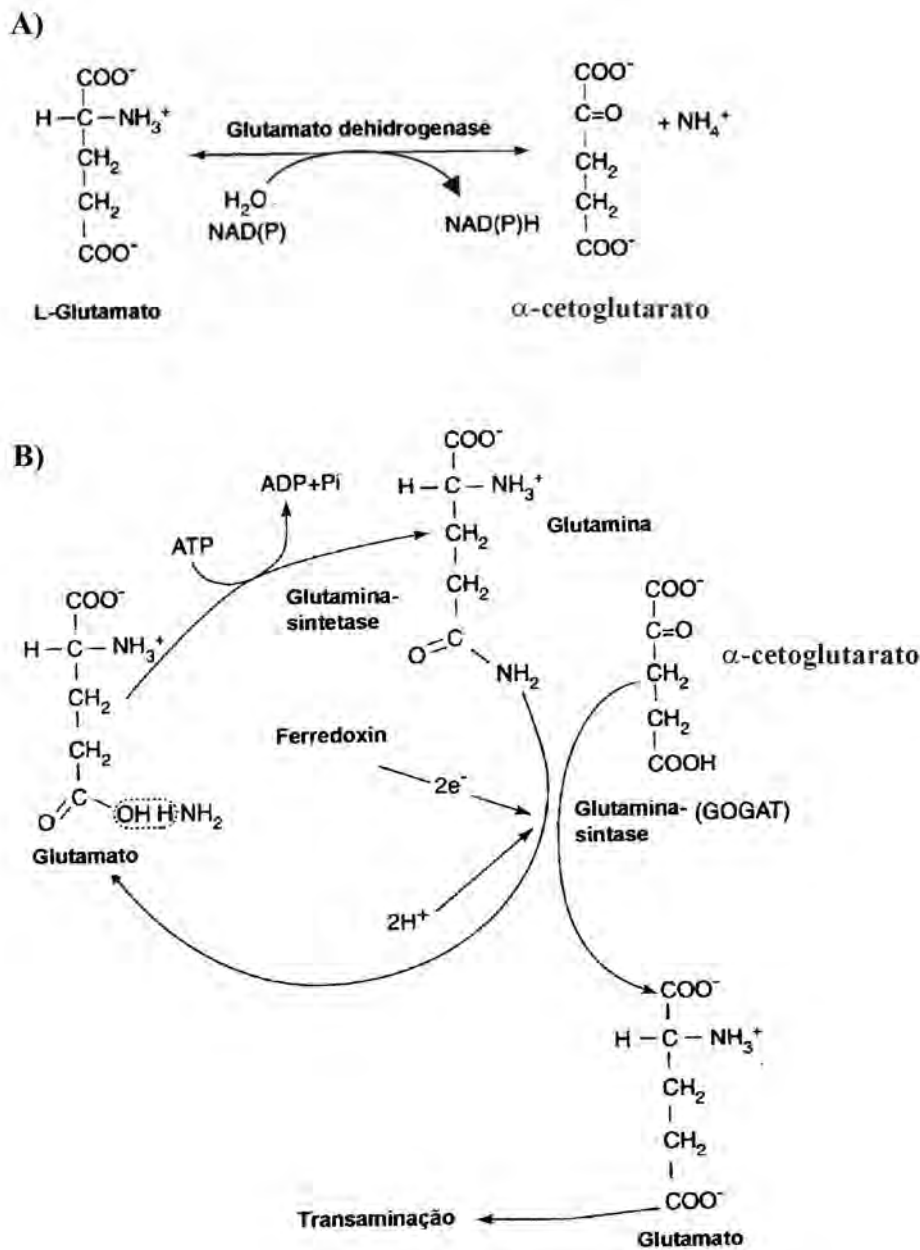


Figura 7.12. Dois principais caminhos de assimilação de amônio: A) rota de assimilação redutiva via glutamato desidrogenase, que é uma reação reversível e trabalha em altas concentrações de amônio; B) glutamina sintetase-glutamato sintase (GOGAT) para incorporação de NH_3 ao glutamato, que é induzida e funciona em baixas concentrações de amônio, um sistema de absorção que requer energia.

ficações, enquanto os anelídeos têm participação maior na mineralização de N em solo sem cultivo, pois esses organismos são danificados pela interferência mecânica no solo. No plantio direto, ocorre, na verdade, aumento na imobilização do N devido à maior biomassa estimulada pelo maior aporte de resíduos orgânicos ao solo. Isso é bastante evidente quando se implanta o plantio direto em solos sob cultivo convencional conforme ilustrado na **figura 7.14**. A alteração na quantidade de resíduos depositados no solo altera a dinâmica de N, ocorrendo inicialmente sua imobilização líquida com posterior reversão desse processo para mineralização líquida, após alguns anos de plantio direto. Essas alterações resultam da elevação no teor de C no solo e, assim, dependem do manejo do agrossistema, especialmente no que diz respeito à produção de palha e aplicação de N-mineral na cultura. Por isso, no início da implantação do plantio direto, faz-se necessário aplicar certa quantidade de N mineral para evitar prejuízos causados pela imobilização extra de N. No sistema com plantas de cobertura, N imobilizado na palhada dessas é liberado de forma diferenciada em função da espécie de planta de cobertura e do sistema de cultivo.

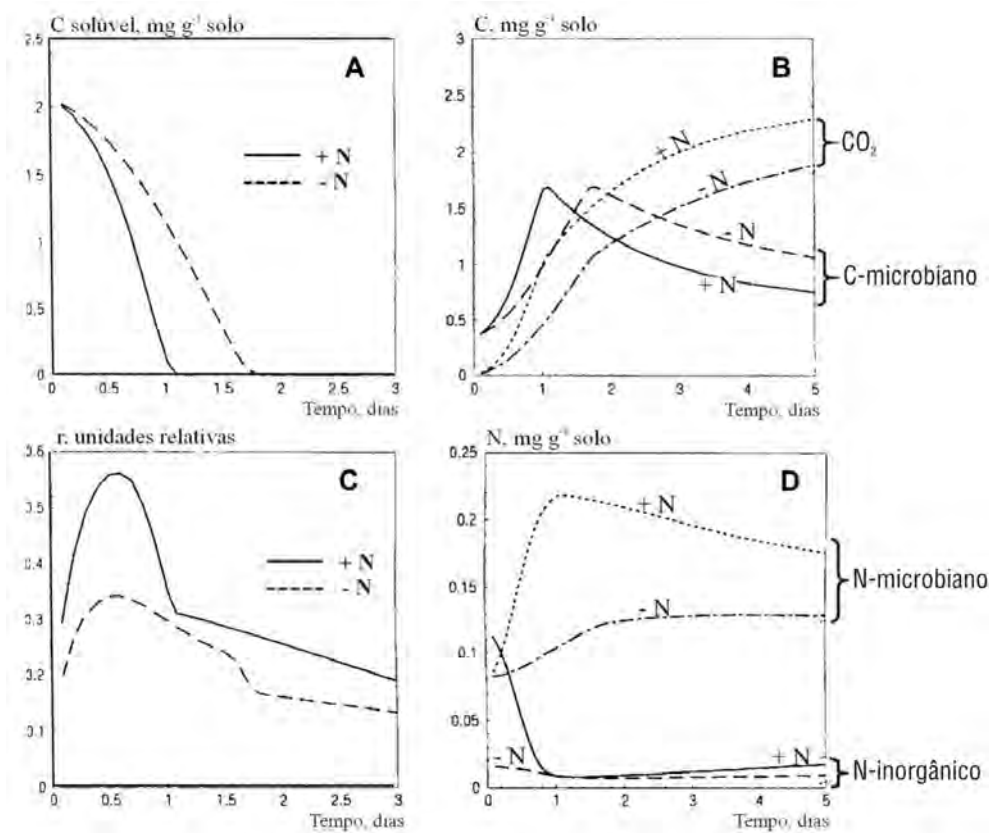


Figura 7.13. Dinâmica do crescimento, atividade microbiana e decomposição em condições de alto e baixo N. **A:** C-solúvel; **B:** C-microbiano e C-CO₂; **C:** estado de atividade da biomassa; **D:** N-microbiano e inorgânico no solo. (Blagodatsky et al., 1998.)

Tabela 7.18. Taxas de mineralização de N no solo pelos componentes da biota do solo calculadas pelo modelo *foodweb* (Modificado de Bloem et al., 1997).

Organismos	Cultivo		Alteração devido ao cultivo
	Mínimo	Convencional	
	-----kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ -----		%
Bactérias	97	137	+ 41
Fungos	15	13	- 14
Amebas	110	145	+ 32
Nematóides/Fauna	2,0	2,4	+ 20
Anelídeos	12,1	2,4	- 80

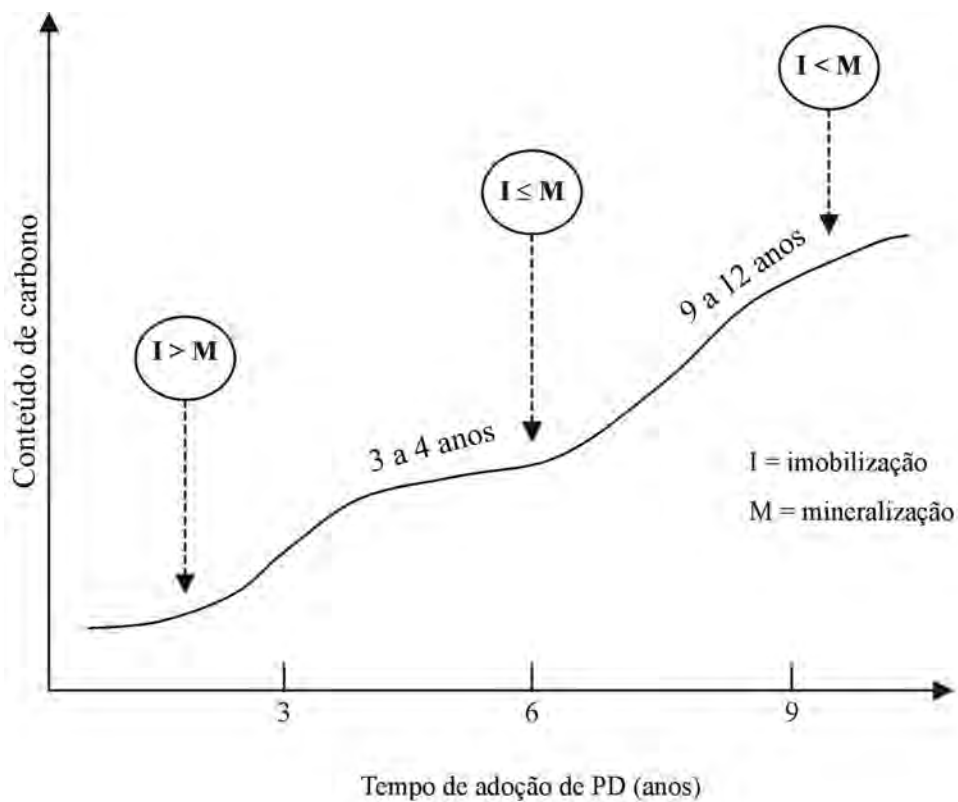


Figura 7.14. Conteúdo de carbono e dinâmica da imobilização/mineralização de N em solo da região dos Campos Gerais no Paraná em diferentes períodos de plantio direto. (Sá, 1999.)

A mineralização de N é influenciada pelos fatores que controlam o crescimento e a atividade microbiana no solo, como pela qualidade ou taxa de aplicação do resíduo. A adição de N em resíduos com alta relação C:N aumenta a sua taxa de degradação no solo. A imobilização, que é o inverso da mineralização, depende também muito do estado de atividade da biomassa, avaliado como fator atividade na **figura 7.15**. À medida em que a relação N:C se torna estreita e a atividade mais elevada, a imobilização de N aumenta. Isso depende da capacidade da microbiota de reutilizar a biomassa, ou seja, da taxa de crescimento e de mortalidade da população. Além da relação C:N, verifica-se que a taxa de imobilização aumenta com a elevação da temperatura até aproximadamente 35°C para a maioria dos solos. Acima dessa, ocorre redução do crescimento e morte das células microbianas, reduzindo a imobilização líquida. Do ponto de vista funcional, a taxa de mineralização de N é um processo essencial ao ecossistema e, portanto, indicador da qualidade do solo. As condições de uso do solo influenciam a mineralização, como mostra a **tabela 7.19**. Apesar de a quantidade de biomassa não variar muito, a taxa de mineralização de N difere muito entre o cerrado natural e o solo adjacente cultivado com arroz, porém é muito inferior à do solo sob rotação com leguminosa. Isso relaciona-se com o fluxo do nutriente na biomassa microbiana, que é a metade no solo com 3 anos de arroz em relação àquele sob rotação com pastagem consorciada com leguminosa. Apesar de haver pequena diferença na biomassa, a mineralização de N e seu fluxo e de P são maiores no sistema arroz-pastagem-leguminosa, indicando a menor sustentabilidade da monocultura de arroz em solo de cerrado.

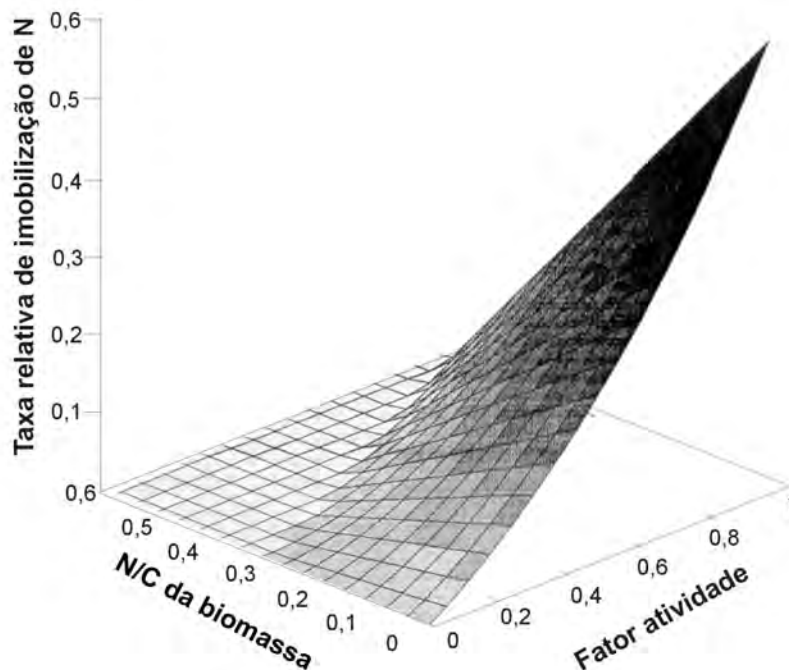


Figura 7.15. Taxa de imobilização de N em função da relação N:C e atividade da biomassa microbiana. (Blagodatsky & Richter, 1998.)

Tabela 7.19. Biomassa microbiana, taxa de mineralização e fluxo de N e P na biomassa de um solo de cerrado do Brasil (CIAT, 1994).

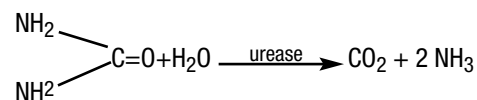
Uso do solo	Biomassa	Mineralização		Fluxo biomassa*	
	C	C	N	N	P
	kg ha ⁻¹	% dia ⁻¹	µg g ⁻¹ dia ⁻¹	-----kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ -----	
Cerrado	946	0,023	0,02	132	24
Arroz (3 anos)	868	0,017	0,04	86	24
Arroz-Pastagem-Leguminosa	947	0,033	0,65	165	32

* Estimado considerando o tempo de reciclagem (t) microbiana = 0,5 ano.

A mineralização/imobilização é intensa em condições aeróbias e, pequena, em condições de anoxia. Como as populações microbianas, porém, nessas condições, é muito diferente, a dinâmica da mineralização de N também é alterada. Em condições anóxicas, a mineralização é mais lenta e os produtos formados, diferentes, havendo menor imobilização devido à menor biomassa e, portanto, baixa demanda de N. Enquanto isso, em condições óxicas para que haja a mineralização líquida, a concentração de N do resíduo deve ser superior a 1,7%; em condições anóxicas, pode ocorrer quando o teor de N do resíduo for da ordem de 0,5%.

Outra forma de N-orgânico importante no solo é a uréia geralmente originada da urina dos animais, de transformações no solo ou, ainda, adicionada via fertilizantes. Em ruminantes, há uma equivalência entre N eliminado nas fezes e na urina, em que a uréia representa de 50 a 75% de N excretado. Em excreções de aves, o ácido úrico é o composto nitrogenado mais abundante, representando de 50 a 70% do N total. Esse ácido é decomposto por inúmeras bactérias como as *Pseudomonas* spp. e *Enterobacter* sp., que o transformam em alantoína e, depois, em ácido alantóico, degradado a ácido glioxílico e uréia.

A hidrólise da uréia no solo é predominantemente biológica catalisada pela urease, conforme equação a seguir:



A urease é produzida pelas plantas, microrganismos e alguns membros da fauna, sendo encontrada em quase todos os solos; hidrolisa rapidamente a uréia com liberação de CO₂ e NH₃. O NH₃ produzido é imediatamente oxidado a NO₃⁻ nos solos aerados. A atividade da urease é um indicador da qualidade biológica do solo, sendo influenciada por inúmeros fatores como pH, teor de argila, carbono e metais pesados.

7.3.3. Nitrificação

O N-orgânico contido nos aminoácidos, ou outros monômeros produzidos pela ação das enzimas extracelulares sobre moléculas mais complexas, é absorvido pelos microrganismos e, dentro das células, sofrem desaminação, sendo parte do grupo amino excretado como amônia (NH_3) que entra em equilíbrio formando amônio (NH_4) no solo. A amônia continua a sofrer transformações, convertendo-se em NO_2^- , que, imediatamente, converte-se em NO_3^- , processo chamado *nitrificação*. Um esquema geral dessas transformações se encontra na **figura 7.16**. Esse é um processo importante do ciclo de N, pois como a amoniacal é a principal forma de N disponível para a maioria das plantas, ele influencia a produtividade primária dos ecossistemas, tornando-se fator determinante da ecologia e biodiversidade das comunidades.

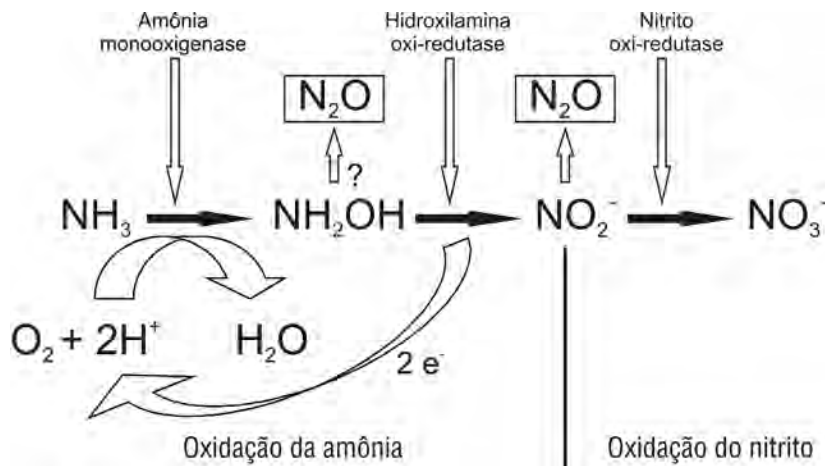
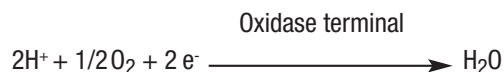
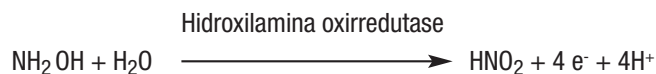
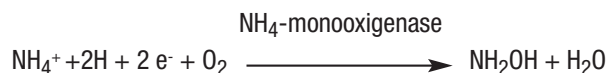
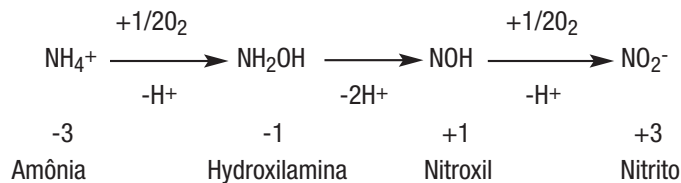


Figura 7.16. Resumo das rotas e enzimas da nitrificação. (Com base em Hynes & Knowles, 1984; Poth & Focht, 1985, e Wood, 1986.)

Os procaríotos quimioautotróficos são os principais facilitadores desse processo, mas não são os únicos, pois pode ocorrer a nitrificação heterotrófica por fungos em certas condições e, recentemente, ficou demonstrado que leguminosas fixadoras de N_2 também fazem nitrificação na parte aérea (Hipkin et al., 2004). A nitrificação microbiana do amônio a nitrato é realizada por bactérias quimioautotróficas que usam a nitrificação como fonte de energia para fixação de CO_2 . Estas são bactérias gram-negativas capazes de crescer às custas da energia contida em NH_3 ou NO_2^- , sendo também referidas como bactérias oxidantes de N ou nitrificantes. Esse processo acontece em duas etapas: a) *Nitrificação*, que é a transformação de amônio a nitrito mediada, por exemplo, por bactérias do gênero *Nitrosomonas*, e b) *Nitratação*, que é a transformação de nitrito a nitrato, realizada por bactérias do gênero *Nitrobacter*, conforme as seguintes reações que ocorrem nas membranas celulares:

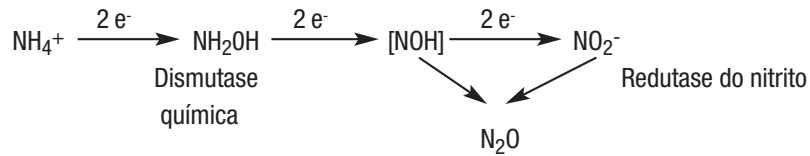


A transformação de 6 elétrons que acompanham a oxidação da amônia (estado de oxidação de -3) para NO_2^- (estado de oxidação de +3) por *Nitrosomonas* sugere que, pelo menos, dois compostos intermediários são formados: hidroxilamina (NH_2OH) e nitroxil (NOH), de acordo com a reação abaixo:

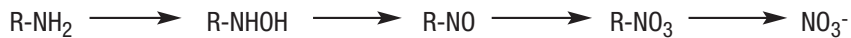


A energia liberada pela reação (65 Kcal mol^{-1}) é usada pelos organismos para realizar suas atividades vitais. A oxidação de NO_2^- para NO_3^- por *Nitrobacter* envolve transferência de dois elétrons no estado de oxidação de N (de +3 para +5), com liberação de $17,8 \text{ kcal mol}^{-1}$ de energia. Esta reação é facilitada por um sistema de oxidase do nitrito, com elétrons sendo carregados para O_2 via sistema citocromo e com geração de ATP. Tais reações produzem grande quantidade de energia usada na redução de CO_2 via ciclo de Calvin. Essas bactérias, em geral, apresentam baixa eficiência de crescimento e podem usar outros substratos mais reduzidos.

Alguns microrganismos quimiorganotróficos, como bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Achromobacter*, são também capazes de efetuar a nitrificação, acumulando NO_2^- . Há evidências de que NO e N_2O podem também ser produzidos a partir da oxidação de NH_4^+ , indicando que a nitrificação não é a única via de oxidação de NH_4^+ no solo. O gás N_2O pode surgir pela desmutação química do nitroxil (NOH) e através da ação da redutase do nitrito, como mostrado na ilustração abaixo e pelo menos, um pouco de NO_2^- produzido no solo pela nitrificação pode se perder para a atmosfera por esse processo.



Também o fungo *Aspergillus flavus* e espécies de *Penicillium* e *Cephalosporium* formam NO_3^- na presença de NH_4^+ . Esses usam compostos orgânicos como fonte de C e energia através de um processo oxidativo, conhecido como *nitrificação heterotrófica*. Embora exista a comprovação em meio artificial de que esses microrganismos possam oxidar o NH_4^+ , não existem evidências de que o possa ocorrer no solo em condições naturais. Nitrificadores heterotróficos são capazes também de produzir NO_3^- a partir de fontes orgânicas. Isso parece ocorrer especialmente em fungos através da oxidação de amins ou amidas para hidroxilamina de acordo com a seguinte seqüência:



A nitrificação em plantas não era conhecida até recentemente, quando se demonstrou que algumas leguminosas fixadoras de N_2 sintetizam a partir da asparagina e acumulam o ácido 3-nitropropionico que é um composto tóxico e convertido em N inorgânico oxidado (NO_3^- , NO_2^-) na parte aérea de onde retorna ao solo via serrapilheira (**Figura 7.17**). Esse processo representa um fenômeno novo do ciclo do N, que é a assimilação a partir de N_2 e conversão em forma oxidada no mesmo organismo (planta), retornando ao solo como NO_3^- .

A nitrificação bacteriana é a principal via de nitrificação no solo, sendo influenciada por vários fatores, os mais importantes comentados resumidamente a seguir:

a) aeração: sendo um processo de oxidação estritamente aeróbio, a nitrificação depende da presença de oxigênio. Dessa maneira, qualquer procedimento capaz de aumentar a aeração de um solo acelera a nitrificação. Em ambientes anaeróbios, a nitrificação mediada por microrganismos quimiolitotróficos não ocorre;

b) temperatura: a mais favorável para a nitrificação situa-se na faixa de 26 a 32°C, cessando acima de 51°C. Abaixo de 5°C, muito pouco NO_3^- é formado. Como se poderia esperar, a nitrificação ocorre em uma taxa muito lenta em solos de clima frio, favorecendo o acúmulo de N-NH_4^+ ;

c) umidade: além de estar indiretamente associada com a aeração do solo, a umidade exerce também influência direta na nitrificação, que pode ser retardada por condições extremas de umidade, quer reduzidas, quer saturadas (**Figura 7.18**). O teor ótimo de umidade para a nitrificação pode ser considerado, em geral, o mesmo que o exigido para o crescimento ótimo dos microrganismos e dos vegetais superiores;

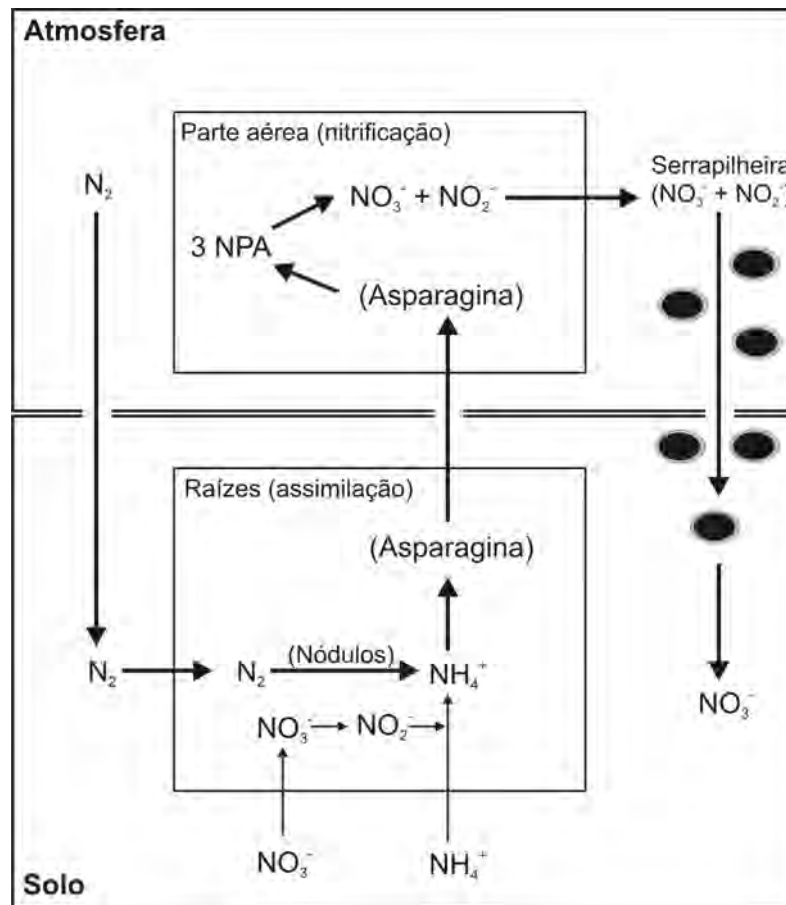


Figura 7.17. Assimilação de nitrogênio e nitrificação fotoautotrófica em leguminosas. (Modificada de Hipkin et al., 2004.)

d) reação do solo: a nitrificação é muito influenciada pela acidez do solo, sendo estimulada pela calagem dos ácidos. O processo de oxidação exige altos teores de bases trocáveis, o que explica, em parte, a baixa taxa de nitrificação encontrada em solos minerais ácidos. Os microrganismos responsáveis pela nitrificação são sensíveis a valores baixos de pH e requerem um pH na faixa neutra a alcalina para atingir seu crescimento ideal. No solo, a nitrificação é máxima em pH de 6,6 a 8,0, sendo muito reduzida em pH menor que 6,0 e nula em menos que 4,5. Em solos ácidos, a população de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* tem atividade extremamente baixa e, muitas vezes, nem chega a ser detectada. No entanto, existem bactérias típicas de situações muito ácidas como *Nitrospira briensis*. Tem sido sugerida a possibilidade de a nitrificação ser causada por microrganismos quimiorganotróficos adaptados às condições de acidez do solo. Mesmo nos ácidos, podem existir microhabitats a pH elevado, onde a acidez não seria fator limitante para a nitrificação;

e) fertilizantes: a aplicação de quantidades elevadas de fertilizantes amoniacais a solos alcalinos ini-

be a segunda fase da nitrificação. Nessas condições, a amônia formada é tóxica a *Nitrobacter*, sem exercer influência prejudicial a *Nitrosomonas*. Como resultado, quantidades tóxicas de nitrito poderão acumular-se no solo;

f) matéria orgânica e relação C:N: como discutido, a relação C:N de materiais incorporados ao solo tem influência marcante em todas as transformações de N, em especial na nitrificação. Relações C:N elevadas causam a imobilização de N mineral, pelo menos temporária, cessando a nitrificação por falta de substrato (NH_4^+) e podendo causar deficiência de N para as plantas. Por exemplo, em um solo cultivado que ofereça condições favoráveis à nitrificação, a presença de nitrato encontra-se em nível razoavelmente alto e a relação C:N do solo, baixa. Os organismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica encontram-se em nível reduzido de atividade e a produção de CO_2 é mínima. Quando se adiciona quantidade elevada de resíduos orgânicos com alta relação C:N ao solo, a microbiota quimiorganotrófica (bactérias, fungos e actinomicetos) que atua na decomposição da matéria orgânica, torna-se ativa, multiplicando-se rapidamente e produzindo CO_2 em grande quantidade. Nessas condições, o nitrato praticamente desaparece do solo, bem como o amônio. Durante certo período, a disponibilidade de N mineral para as plantas pode ser muito limitada;

g) fatores tóxicos: concentrações elevadas de certos metais e substâncias orgânicas alelopáticas e xenobióticos também podem inibir a nitrificação. Sabe-se que grande variedade de compostos orgânicos, incluindo certos aminoácidos, bases nitrogenadas e compostos aromáticos, inibem o crescimento de nitrificadores. Solos de pastagens e sob florestas geralmente contêm maior quantidade de NH_4^+ que de NO_3^- . Tem-se atribuído à inibição da nitrificação a substâncias excretadas por raízes de gramíneas e monoterpenos liberados pelas árvores em solos florestais, mas o baixo pH também pode contribuir para isso. Os nitrificadores estão entre as bactérias mais sensíveis do solo aos produtos químicos como herbicidas, fungicidas e inseticidas. Todavia, qualquer redução no seu número geralmente tem curta duração. Várias revisões sobre o assunto indicam que a maioria dos pesticidas, quando aplicados em taxas recomendadas, é improvável de afetar a nitrificação de forma irreversível. Na verdade, algum efeito inibitório temporário de certos produtos como herbicidas na nitrificação pode ser vantajoso para a economia de N. De fato, vários produtos desse tipo têm sido desenvolvidos para conservar o N dos fertilizantes e aumentar seu aproveitamento pelas plantas. Presumivelmente, inibindo a conversão de NH_4^+ para o NO_2^- e NO_3^- , perdas associadas com a desnitrificação e a lixiviação serão diminuídas e resultarão em benefícios econômicos e ambientais. Compostos como as pirimidinas são fortes inibidores da nitrificação e serviram de base para a formulação de inibidores comerciais da nitrificação.

As formas inorgânicas de NH_4^+ e NO_3^- disponíveis no solo podem seguir vários destinos, que determinam os fluxos de N no sistema. Em geral, as condições predominantes na maioria dos solos favorecem a nitrificação e, conseqüentemente, a formação de N-NO_3^- , que no solo pode:

a) ser absorvido: é o íon nitrogenado absorvido, preferencialmente, pela maioria das plantas cultivadas, embora algumas poucas espécies absorvam igualmente a forma amoniacal. A absorção de excesso de N inorgânico pode ser prejudicial à sua produção ou qualidade;

b) ser reutilizado pelos microrganismos, caso ocorram novas condições favoráveis à imobilização;

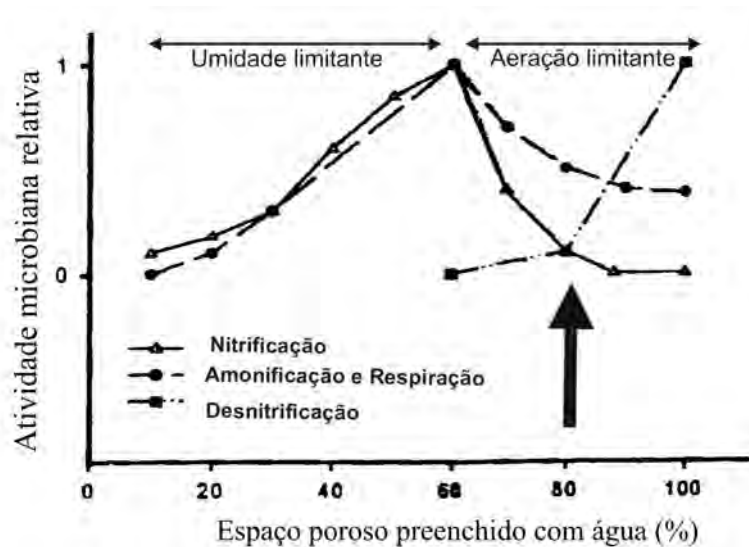


Figura 7.18. Taxas relativas de desnitrificação e outros processos microbianos em função da porcentagem de água no espaço poroso do solo. (Linn & Doran, 1984.)

- c) em condições de alta umidade e fluxo descendente de água, sofre intensa lixiviação devido a $N-NO_3^-$ ser muito móvel no solo e;
- d) ocorrendo baixa concentração de oxigênio, pode sofrer redução (desnitrificação).

Como a maioria das plantas assimila preferencialmente NO_3^- , seu bom desenvolvimento é freqüentemente dependente da nitrificação biológica e, por isso, a capacidade nitrificadora é um bom indicador de fertilidade do solo, tornando esse processo de grande importância ecológica e agrônômica. No entanto, também conduz a conseqüências indesejáveis. O amônio é um cátion que pode ser adsorvido aos colóides do solo, tornando-se relativamente estático, ao contrário do NO_3^- , que, por ser um ânion, fica mais na solução do solo. Em certas condições, particularmente em solos arenosos, com chuvas freqüentes ou quando feitas práticas excessivas de irrigação, NO_3^- é lixiviado e levado para fora da zona radicular, podendo resultar em contaminação do lençol freático e favorecendo a desnitrificação. Desse modo, elevadas taxas de nitrificação podem implicar os seguintes fatores:

- a) excesso do crescimento das plantas no solo e algas nos corpos d'água (eutrofização);
- b) ingestão de excesso de NO_3^- pode causar problemas de saúde ao homem e animais como a metamonoglobinemia. No organismo, NO_3^- é reduzido a NO_2^- , que causa a oxidação de Fe^{2+} a Fe^{3+} da fração heme da hemoglobina, convertendo-a a metamoglobina, que tem capacidade reduzida de transportar O_2 do sangue dos pulmões para o resto do corpo. Nesse caso, o sangue adquirir uma coloração amarronzada, podendo ocorrer a morte por asfixia;

- c) reação com outros componentes orgânicos formando nitrosaminas que possuem ação carcinogênica;
- d) a nitrificação gera produtos poluentes (NO_3^-) ou precursores de gases atmosféricos também poluentes.

Sob a maioria das condições, a oxidação de NO_2^- ocorre mais rapidamente do que a de NH_4^+ ; assim, o NO_2^- é raramente encontrado em concentrações detectáveis no solo, mas pode ocorrer em situações desfavoráveis à segunda etapa da nitrificação, acumulando NO_2^- . O próprio NO_2^- ou produtos de sua conversão, como as nitrosaminas, são considerados agentes carcinogênicos. Desse modo, a rapidez com que o NO_2^- é oxidado a NO_3^- diminui o impacto nocivo de N reativo sobre os seres vivos e o meio ambiente. Condições que favorecem a presença de NH_3 livre, como alto pH e baixa CTC, também limitam a nitrificação devido à toxicidade de NH_3 para a *Nitrobacter*, que é um pouco mais sensível a este que *Nitrosomonas*.

Como uma etapa seguinte à amonificação, a nitrificação exerce papel fundamental nos mecanismos de perdas de N do solo, principalmente naquelas em forma gasosa e por lixiviação. Por isso, entender esse processo é essencial para manejar corretamente N no solo, minimizando os problemas ambientais de N reativo e otimizando a produção agrícola. A adição de uréia ou de fertilizantes amoniacais ao solo pode induzir a variações de pH, pois a amônia formada da hidrólise da uréia é imediatamente hidrolisada, produzindo OH^- e, ao redor do grânulo do fertilizante, o pH pode atingir valores próximos de 10, o que facilita a perda de N por volatilização na forma de NH_3 , sem qualquer envolvimento de reações biológicas. Já quando o NH_4^+ é oxidado a NO_3^- , há a produção líquida de 2H^+ , resultando no abaixamento do pH do solo, e essa alteração tem implicações na ecologia microbiana na rizosfera, tornando-se de grande importância nos agrossistemas, principalmente no âmbito de interações microbianas e incidência de doenças radiculares. O uso freqüente de fertilizantes amoniacais é uma das causas da acidificação de solos agrícolas.

Pela importância que tem para a nutrição das plantas e qualidade dos produtos e por ser um agente poluente em potencial e de impacto ambiental, o controle das concentrações de amônio e nitrato no solo é um tópico de grande interesse. Entender as principais formas e processos que regulam as adições e perdas de N do solo é de fundamental importância para seu manejo racional, que é um importante insumo da produção agrícola. Por possuir um ciclo aberto na natureza, N sofre constantes perdas, tornando-se o nutriente que mais limita o crescimento das plantas e a produção agrícola mundial, sendo responsável pela produção de 2/3 da proteína produzida para alimento no mundo. Tentativas de utilizar fertilizantes nitrogenados de liberação lenta e reguladores da intensidade de atividade da urease ou da nitrificação têm recebido atenção especial nos últimos anos por pesquisadores do mundo inteiro. Como exemplo, tem-se o desenvolvimento da uréia recoberta com enxofre, com cera impermeabilizante ou outro material de baixa solubilidade que controlam a formação de NO_3^- no solo. Também são bastante utilizados, especialmente em culturas de arroz irrigado, os supergrânulos de uréia, que são peletes de 5 a 7 mm de diâmetro com dissolução retardada, elevando a eficiência de utilização de N pela cultura como será discutido nos itens seguintes.

7.3.4. Processos de redução do nitrato

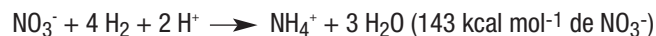
Para completar o ciclo de oxirredução de N, suas formas oxidadas são reduzidas por inúmeros processos assimilatórios ou dissimilatórios, cujas principais características se encontram na **tabela 7.20**. Os processos redutivos de N culminam com a produção de gases, que por representar as perdas de N do solo, causam a destruição da camada de ozônio (O_3). Essa funciona como um filtro de raios ultravioleta emitidos pelo Sol, evitando sua alta incidência na superfície terrestre. Tais raios são responsáveis pelo aquecimento da crosta terrestre, mas a radiação ultravioleta em excesso pode elevar muito a temperatura, contribuindo para o aquecimento global, e a própria radiação tem ação mutagênica e carcinogênica, causando sérios impactos ambientais e ecológicos. A redução do NO_3^- ocorre por meio de vários mecanismos, apresentadas a seguir:

a) redução assimilatória: tem a função de incorporar N à célula na forma de $R-NH_2$. Não conserva energia e ocorre em condições de baixa concentração de NH_4 . Também conhecido por imobilização do NO_3^- . É comum em plantas e microrganismos.

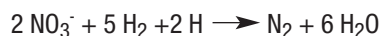
b) quimiodesnitrificação: é uma redução dissimilatória que produz mais NO que N_2 , não conserva energia e ocorre em condições de elevada acidez ($pH < 5,0$). Também chamada desnitrificação não respiratória. Produz N_2O em condições aeróbias com envolvimento de algumas bactérias, fungos e algas. Representa perdas gasosas resultantes da reação química do nitrito produzido por nitrificadores e/ou denitrificadores com certos compostos do solo. Embora exija a produção de NO_2^- , este processo de perda gasosa é estritamente químico e não depende de condições de anaerobiose no solo.

c) respiração do nitrato: produz NO_2^- e conserva energia. Ocorre em condições de baixo suprimento de O_2 sendo regulada por esse fator. É a principal via de redução de NO_3^- no solo. Alguns organismos que dissimilam NO_3^- para NH_4^+ são também respiradores de NO_3^- , mas acumulam NO_2^- .

d) redução dissimilatória de NO_3^- para NH_4^+ : é realizada por algumas espécies de bactérias que conservam energia e produzem mais NH_4^+ que N_2O . Ocorre em condições anaeróbias e é também regulada por O_2 . Realizada por várias bactérias no solo, como anaeróbios obrigatórios (*Clostridium*) anaeróbios facultativos (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) e aeróbios (*Bacillus* e *Pseudomonas*), conforme a reação:



e) desnitrificação respiratória (desnitrificação propriamente dita) : produz formas gasosas na seguinte ordem: $N_2 > N_2O > NO$. Conserva energia e também ocorre em condições anaeróbias. É a verdadeira desnitrificação, surgindo em seqüência à nitrificação (**Figura 7.19**), sendo a redução de NO_3^- acoplada à produção de energia via oxidação fosforilativa (**Figura 7.20a**). É um exemplo de respiração anaeróbia onde um aceptor alternativo é usado no lugar de O_2 , conforme a reação geral:



Desnitrificação

A desnitrificação é o processo redutivo de N mais conhecido e que consiste na redução bioquímica de formas oxidadas a formas gasosas (N_2 e N_2O), envolvendo quatro fases redutivas catalisadas por diferentes enzimas do periplasma, membrana e citoplasma bacteriano conforme ilustrado na **figura 7.20b**. As fases redutivas são seqüenciadas de acordo com a seguinte equação:



O processo é realizado por várias bactérias anaeróbias facultativas, exemplificadas na **tabela 7.21**. Representam entre 0,1 a 5% da população total de bactérias do solo. Nas gram-negativas, como ilustrado na figura 7.20b, o NO_3^- é reduzido na parte interna da membrana periplasmática pela nitrato redutase a NO_2^- , que é convertido pela nitrito redutase a NO, que sofre a ação de outras redutases para N_2O e N_2 .

A desnitrificação é um processo de grande importância geoquímica e ambiental, porém muito complexa. Nas bactérias desnitrificantes, as formas oxidadas de N atuam como aceptores terminais de elétrons oriundos da oxidação de substratos reduzidos (Figura 7.20b). Os elétrons de substratos orgânicos e inorgânicos fluem em cadeia do NAD^+ ao citocromo-B e a sistemas redutases para as formas de N com diferentes estádios de oxidação, causando sua redução até o produto final do processo, o N_2 . Esse processo representa a principal via de perda de N do solo para a atmosfera e, apesar de ser um processo de perda de N do sistema solo-planta, é benéfico em termos globais, pois remove N do solo antes que atinja o oceano, cujo enriquecimento nesse elemento pode causar desequilíbrio biológico.

Estudos sobre o balanço final de N aplicado a culturas agrícolas têm demonstrado que cerca de 20 a 30% do adicionado não são recuperados, sendo presumivelmente perdidos por desnitrificação ou volatilização. Sua consequência prática se faz sentir não somente na baixa eficiência de utilização dos fertilizantes nitrogenados, mas, também, em problemas ambientais causados por N. Assim, a desnitrificação, além de representar perda de N do solo, um insumo caro e limitante para a pro-

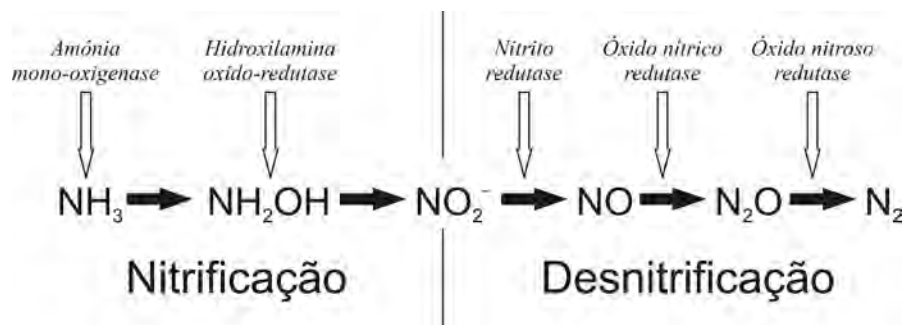


Figura 7.19. Rota da nitrificação desnitrificante e respectivas enzimas. (Wrage et al., 2001.)

Tabela 7.20. Principais características dos processos de redução do NO_3^- e respectivos mecanismos de controle.

Conversão	Redução assimilatória	Redução dissimilatória
$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$	Pela redutase do nitrato, sendo inibido pelo excesso de NH_3 .	Pela redutase do nitrato, sendo ativada pela anoxia.
$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+$	Não ocorre.	Ocorre em condições de anaerobiose.
$\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_2\text{OH}$	Redutase do nitrito, também inibida por NH_3 .	Não ocorre.
$\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_3$	Não ocorre.	Ocorre em bactérias redutoras.
$\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$	Não ocorre.	Redutase do nitrito ativado pela anoxia. NO é perdido para a atmosfera.
$\text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NH}_3$	Ocorre.	Não ocorre.
$\text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O}$	Não ocorre.	Redutase do óxido nítrico ativado pela anoxia. N_2O é perdido.
$\text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	Não ocorre.	Redutase do óxido nítrico ativado pela anoxia. N_2 perdido.
$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{R-NH}_2$	Ocorre em processos assimilatórios.	Não ocorre.

dução agrícola, resulta em sério impacto ambiental, devendo ser minimizada no solo. Para isso, devem-se conhecer bem os fatores que regulam a intensidade desse processo, que são inúmeros e atuam de modo diferenciado, como ilustrado na **figura 7.21**. Esses vão de fatores ambientais gerais àqueles de alta especificidade ao processo, considerados fatores distais e proximais, sendo os últimos os mais importantes reguladores da desnitrificação. Devido a esses fatores, os ecossistemas têm diferentes taxas de desnitrificação, determinadas principalmente por O_2 , teor de NO_3^- e de substrato orgânico. Qualquer fator que atue sobre eles, atuará também indiretamente na desnitrificação, estimulada pela ausência de O_2 , presença de NO_3^- e compostos reduzidos (carbono orgânico para os organotróficos), ou S , HS^- ou NH_4^+ para litotróficos. Além disso, as bactérias desnitrificantes têm que estar presentes e ativas no solo. Dada a importância desse processo para o ciclo geoquímico de N e sua dinâmica no sistema solo-planta, os principais fatores que regulam a desnitrificação são comentados a seguir:

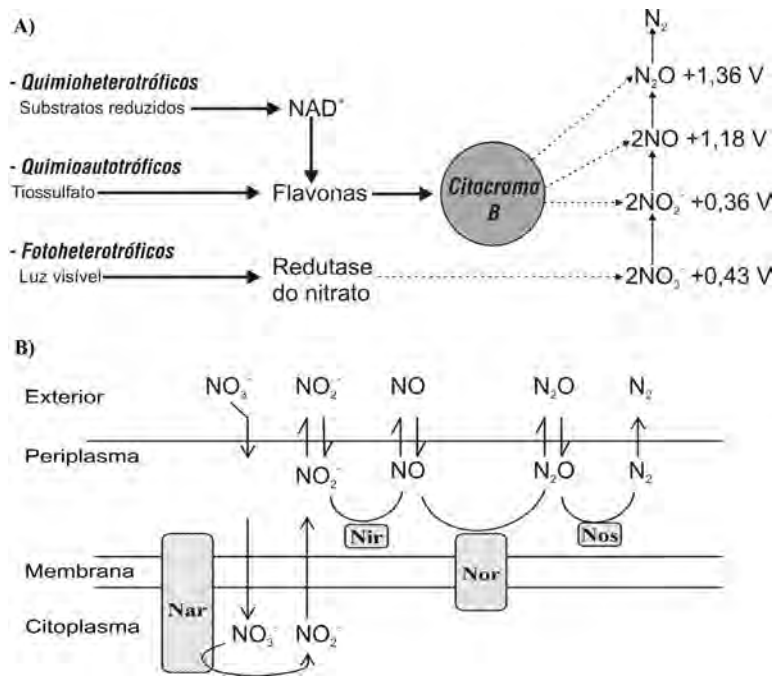


Figura 7.20. A bioquímica da desnitrificação. A: Fluxos de elétrons por várias bactérias anaeróbicas desnitrificantes (Modificado de Payne, em Paul & Clark, 1996). B: desnitrificação em bactéria gram-negativa. **Nar** (nitrato redutase); **Nir** (nitrito redutase); **Nor** (óxido nítrico redutase); **Nos** (óxido nítrico redutase) (Ye et al., 1994.)

Tabela 7.21. Exemplos de gêneros de bactérias capazes de desnitrificar formas oxidadas de nitrogênio (Firestone, *apud* Victória et al., 1992).

Gênero	Algumas características principais
<i>Alcaligenes</i>	Freqüentemente isolado dos solos.
<i>Agrobacterium</i>	Algumas espécies são patógenos em plantas (galhas).
<i>Azospirillum</i>	Capaz de fixar N ₂ , comumente associado a gramíneas.
<i>Bacillus</i>	Termofílicos.
<i>Flavobacterium</i>	Desnitrificador isolado recentemente.
<i>Halobacterium</i>	Requer alta concentração de sal para crescer.
<i>Hyphomicrobium</i>	Utiliza substrato com 1 átomo de carbono.
<i>Parococcus</i>	Capaz de crescimento quimiorganotrófico e quimilitrófico.
<i>Propionibacterium</i>	Bactéria fermentadora, capaz de desnitrificar.
<i>Pseudomonas</i>	Comumente encontrada nos solos.
<i>Rhizobium</i>	Fixa N ₂ em simbiose com leguminosas.
<i>Rhodospseudomonas</i>	Bactérias fotossintéticas.
<i>Thiobacillus</i>	Geralmente cresce como quimiolitotrófico, oxidando S.

a) umidade e aeração do solo: a quantidade de água no solo regula sua disponibilidade de oxigênio neste e, assim, a desnitrificação. A variação das taxas de desnitrificação no campo pode ser explicada pela umidade, existindo forte relação entre o espaço poroso do solo, preenchido com água, e a desnitrificação, como mostra a figura 7.18. A desnitrificação ocorre a partir de 60% de saturação do espaço poroso do solo com água, acentuando-se a partir de 80%. A desnitrificação e a nitrificação na faixa de 60-90% ocorrem devido à individualização de microssítios no solo. Assim, devido à existência de microssítios anaeróbios, a desnitrificação pode ocorrer mesmo em solos aerados e vice-versa;

b) pH e temperatura: as bactérias desnitrificantes crescem melhor em pH 6 a 8. A desnitrificação é lenta em pH menor que 5,0 e geralmente ausente em pH muito ácido, menor que 4,0. A temperatura do solo afeta diretamente a desnitrificação, que aumenta exponencialmente de acordo com a equação de *Arrhenius* (capítulo 3). A temperatura afeta também O_2 solúvel e sua difusão na água. Em solos com temperatura entre 15 e 20°C, a relação temperatura e potencial de desnitrificação é mais linear que exponencial, portanto, como acontece com a decomposição, esse processo também deverá ser acelerado pelo aquecimento global. A temperatura mínima para que a desnitrificação ocorra é acima de 5°C e, a máxima, de 75°C. Acima de 50°C, pode haver decomposição química do nitrato, que se torna significativa em regiões muito quentes;

c) teor de nitrato e de carbono: os principais desnitrificadores são os heterotróficos, com elevada demanda por carbono, que atua de várias maneiras na desnitrificação (Figura 7.20a). Esses utilizam NO_3^- comoceptor alternativo de elétrons, sendo mais limitante que o carbono para essas bactérias. A taxa de desnitrificação cresce linearmente com a concentração de NO_3^- até 20 $\mu g N ml^{-1}$. Em concentrações acima, a reação é independente da quantidade de NO_3^- presente. Em geral, a taxa de desnitrificação é tão influenciada pela quantidade de carbono disponível para o metabolismo quanto pelo nível de NO_3^- no solo. Geralmente, existe alta correlação positiva entre o teor de carbono e o potencial de desnitrificação do solo. Além de fornecer elétrons, a decomposição da matéria orgânica consome O_2 , aumentando a necessidade de NO_3^- comoceptor de elétrons para o crescimento microbiano.

A quantidade de N perdida pela desnitrificação no solo varia muito, atingindo valores globais de 6 a 65 Tg ano⁻¹. Valores típicos de perda vão de 5 a 15 kg ha⁻¹ e representam, em solos agrícolas, o equivalente a cerca de 20% de N aplicado via fertilizante. Além de representar um prejuízo para a agricultura, a desnitrificação contribui para o estreitamento da camada de ozônio e para o efeito estufa. Os processos do solo contribuem com cerca de 30% de NO_x , 70% de N_2O e 20% de NH_3 emitido para a atmosfera (Mosier, 1998). Como esses gases possuem elevada capacidade de absorção radiativa, tem sido crescente a preocupação com a emissão de gases N_2O , de elevado potencial de aquecimento global, por apresentar meia-vida superior a cem anos. Além disso, o N_2O reage com o oxigênio da estratosfera, produzindo o óxido nitroso (NO) que causa redução na camada de ozônio estratosférico. A principal fonte de N_2O antropogênico é sua emissão resultante das transformações de N dos fertilizantes aplicados nos solos agrícolas.

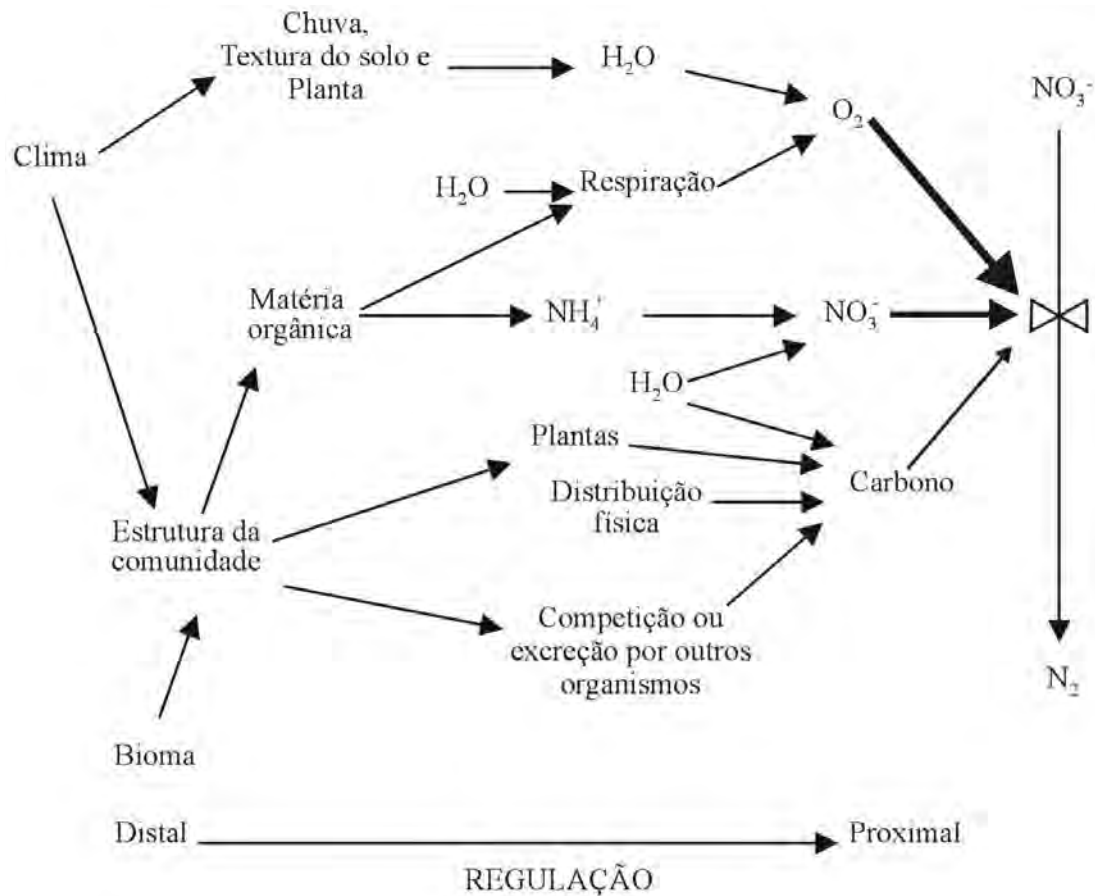


Figura 7.21. Fatores ambientais que regulam a desnitrificação no solo. (Roberson *apud* Paul & Clark, 1996.)

Ritchie & Nicholas (1972), trabalhando com *Nitrosomonas europaea*, propuseram que alguns nitrificadores são também desnitrificadores. Esses autores denominaram essa rota “*nitrificação desnitrificante*”, a qual contribui para a perda considerável de NH_4^+ do solo na forma de NO e N_2O . Nessa rota metabólica, o amônio é oxidado a NO_2^- que, em seguida, é reduzido a N_2O (Figura 7.19), sendo realizada apenas por nitrificantes autotróficas. Isso difere da chamada nitrificação/desnitrificação acoplada, realizada por diferentes microrganismos co-existentes que, em conjunto, transformam amônio em N_2 . A nitrificação desnitrificante é influenciada pela disponibilidade de NH_3 que influencia a atividade de nitrificadores com capacidade de desnitrificar, e pela disponibilidade de O_2 que influencia esses organismos, e as transformações de NH_3 para N_2O e N_2 . A relação entre essas transformações é ilustrada na **figura 7.22**, que mostra as diferentes rotas, produtos e inter-relações entre

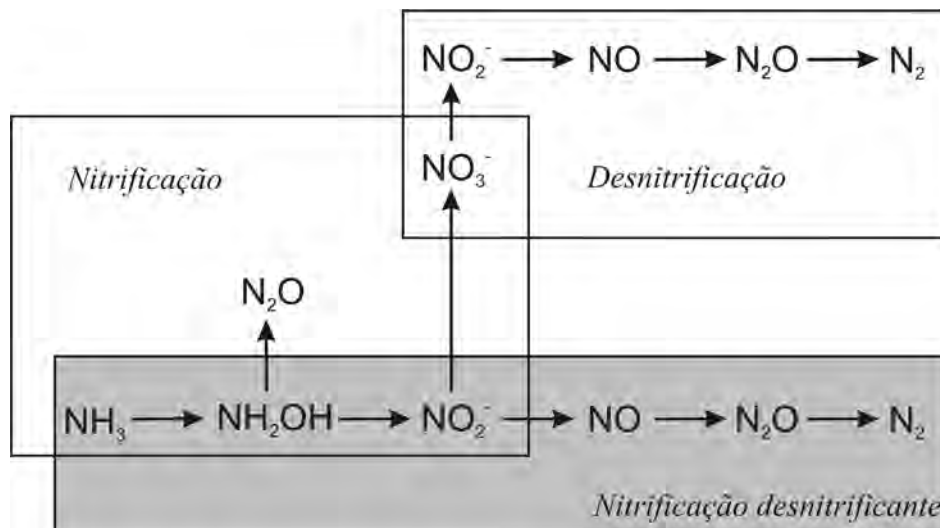


Figura 7.22. Reações principais da oxidação e redução de N no solo com ênfase para a nitrificação desnitrificante. (Wrage et al., 2001.)

os processos, os quais são regulados pelas condições do solo (**Figura 7.23**). Embora a nitrificação desnitrificante seja influenciada por diversos fatores ambientais, é difícil estabelecer em que situações ou nichos ecológicos predominará essa ou a nitrificação seguida da desnitrificação, ou, ainda, se ocorrerá outro processo da transformação desse elemento. Conforme discutido em Wrage et al. (2001), a nitrificação desnitrificante ocorre com maior intensidade em solo fertilizado com muito N-mineral, elevados teores de matéria orgânica e baixa oxigenação. Em termos gerais, tem-se que a nitrificação não ocorre em solos pobres em N e a desnitrificação ocorre em condições de elevada disponibilidade de substrato orgânico e baixo O_2 . A nitrificação desnitrificadora somente surge em baixa disponibilidade de O_2 .

Situação que merece atenção especial é o cultivo em solos alagados (**Figura 7.24**), como ocorre na cultura do arroz, onde grande quantidade de N é perdida via desnitrificação para a atmosfera. Em solo inundado, tem-se uma estratificação vertical para as condições de oxirredução, destacando-se uma zona aeróbia na interface solo-água e rizosfera e zonas anaeróbias diferentes abaixo dela. Portanto, mesmo quando se emprega N-NH_4 , ocorre nitrificação e NO_3^- pode difundir-se para a zona anaeróbia, onde será reduzido (desnitrificação) (Figura 7.24). A adubação nitrogenada do arroz irrigado exige um manejo muito cuidadoso, não se aplicando fertilizantes nítricos, os quais são perdidos rapidamente pela desnitrificação. Mesmo fontes amoniacais aplicadas na superfície podem ser oxidadas, favorecendo esse processo de perdas. Para reduzi-las, fertilizantes devem ser incorporados abaixo da camada oxidada onde o N seria absorvido mais rapidamente pelas raízes da cultura, sendo assim menos oxidado por estar em região mais reduzida. Assim, a maneira de diminuir a desnitrificação nessas condições é controlar ou reduzir a nitrificação. Isso pode ser consegui-

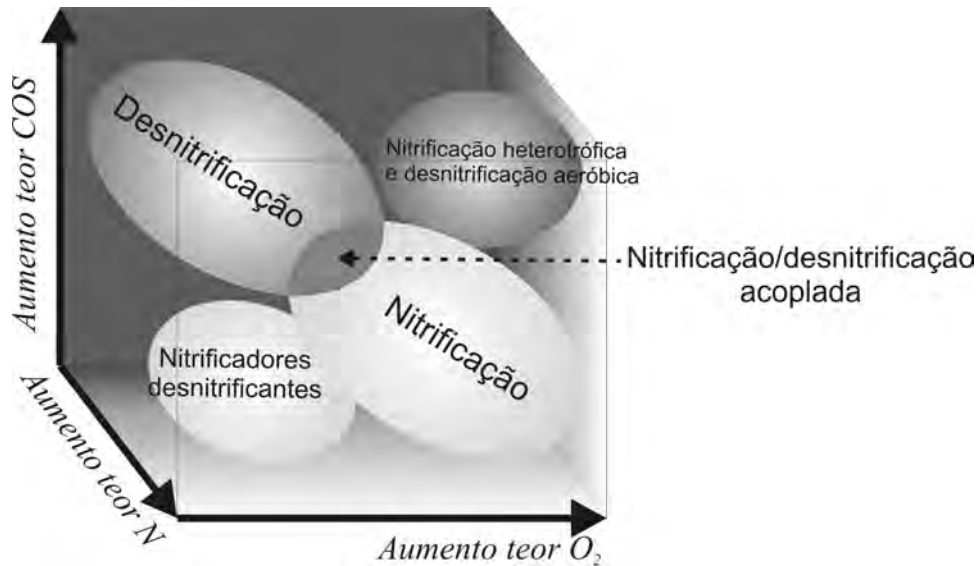


Figura 7.23. Fatores ambientais e nichos ecológicos determinantes dos processos bioquímicos das transformações do N em solos adubados. (Wrage et al., 2001.)

do através do controle do pH, mantendo-o abaixo de 6,0, fazer aplicação mais profunda do fertilizante amoniacal e aumentar a lâmina d'água nos cultivos alagados ou fazer uso de inibidores da nitrificação. Como visto no item 7.2, nesse agrossistema ocorre também grande produção de CH_4 e, por isso, precisa ser manejado corretamente visando a diminuir a emissão de elementos em formas gasosas para a atmosfera e o agravamento do aquecimento global.

7.3.5. A disponibilidade de N no solo

Como N é um dos elementos que mais limitam o crescimento da vegetação e a produção agrícola, é crucial entender os mecanismos que controlam sua disponibilidade para as plantas. Embora até $6.000 \text{ kg N ha}^{-1}$ possam estar presentes em formas orgânicas combinadas no solo, sabe-se que apenas pequena parte deste, geralmente menos que 0,1%, existe na forma de compostos inorgânicos disponíveis como os íons NO_3^- e NH_4^+ . Portanto, somente alguns quilogramas de N por hectare podem estar imediatamente disponibilizados às plantas ou a processos biológicos do ecossistema. Tanto NH_4^+ quanto NO_3^- nativos do solo são considerados produtos das transformações biológicas das inúmeras formas em que N ocorre no sistema. Essas transformações são complexas do ponto de vista bioquímico e influenciadas por diversos fatores ambientais, conforme já discutido e resumido na **tabela 7.22** e também ilustrado na figura 7.24.

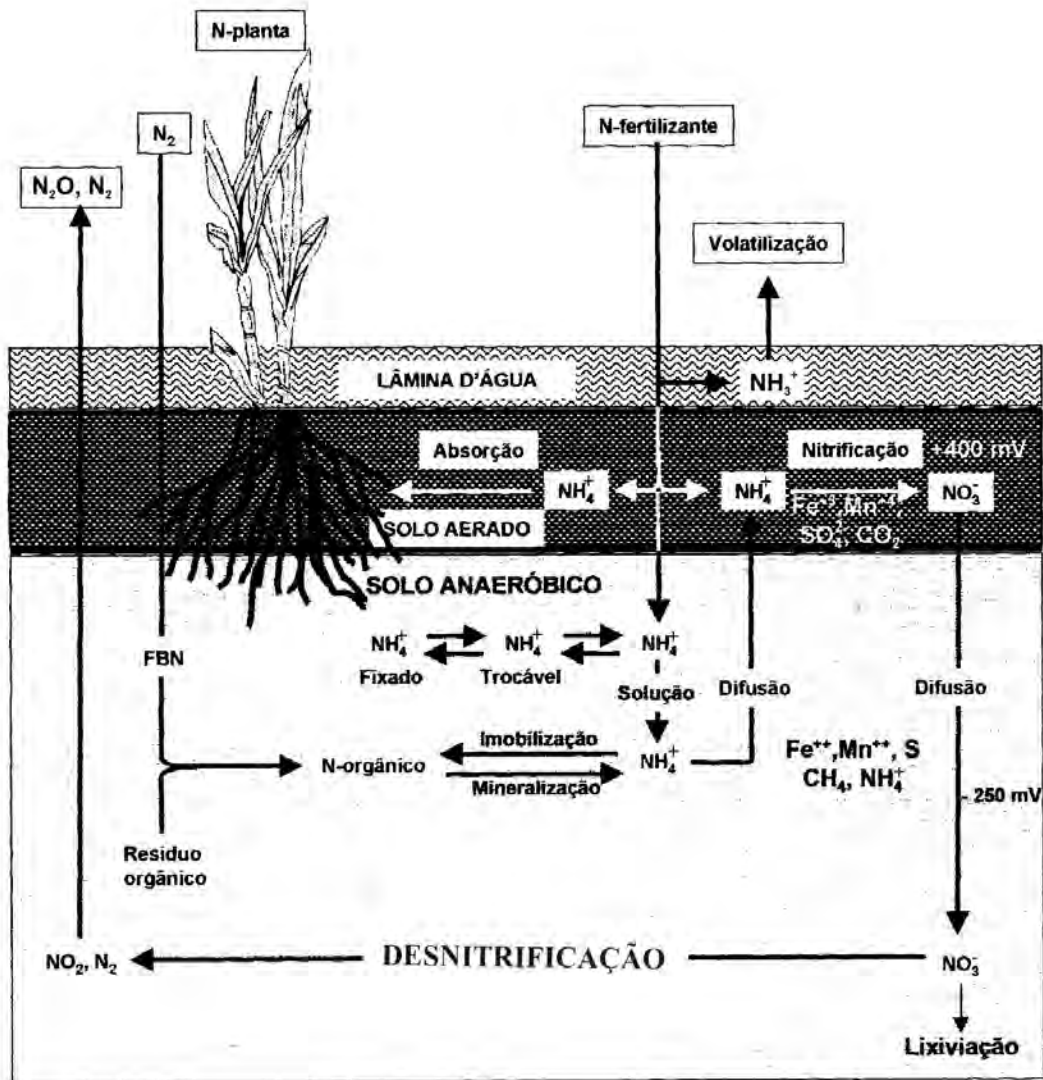


Figura 7.24. Processos das transformações de N e outros elementos em solo inundado. (Stevenson, 1982.)

Tabela 7.22. Resumo dos principais fatores ambientais que influenciam os processos bioquímicos das transformações do N no solo.

Fator	Processo e principal controle
Acidez	<ul style="list-style-type: none"> • Amonificação: pH ótimo 6-7; • Decomposição: reduzida em pH muito ácido; • Imobilização: em condições extremas de pH, pode ser química (argilas e ligninas); • Nitrificação: ocorre em pH 3 a 9, ótimo próximo da neutralidade; • Desnitrificação: predominantemente química em pH < 6.
Aeração	<ul style="list-style-type: none"> • Amonificação: é mais rápida em aerobiose, mas acontece em anaerobiose; • Nitrificação: é necessariamente aeróbia; • Imobilização: é reduzida em condições anaeróbias, em virtude de baixa produção de massa e baixa eficiência energética devidos à fermentação.
Umidade	<ul style="list-style-type: none"> • Amonificação: ótima com 50 a 70% da capacidade de retenção de umidade do solo, mas ocorre mesmo em solo encharcado ou inundado; • Nitrificação: ótimo até próximo à saturação; • Desnitrificação biológica: ocorre acima de 80% da capacidade de retenção de umidade.
Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> • Amonificação: ocorre de 4 a 80°C, ótima de 40 a 60°C; • Nitrificação: ocorre de 4 a 40 °C, ótima de 30 a 37°C; • Imobilização: é favorecida em baixa temperatura; • Desnitrificação biológica: ocorre de 4 a 65°C, ótima de 25 a 35°C
Nutrientes	<ul style="list-style-type: none"> • N e P freqüentemente limitam a mineralização; • Ca é nutriente essencial ao metabolismo microbiano e com acentuado efeito tampão. Influencia principalmente a mineralização e a nitrificação.
Mineralogia	<ul style="list-style-type: none"> • Formação de complexos com compostos nitrogenados reduz a decomposição e mineralização desses compostos.

Para o mesmo ecossistema, os teores de N-inorgânico variam diariamente e de uma estação para outra, refletindo as mudanças ambientais que dificultam o desempenho de métodos para avaliação da disponibilidade desse nutriente no solo. A complexidade dos fatores que regulam N disponível no solo encontra-se na **figura 7.25**. Os níveis de NH_4^+ e NO_3^- trocáveis no solo são muito afetados pela temperatura e pela precipitação, determinados pela estação do ano. As quantidades encontradas nas camadas superficiais do solo são geralmente mais baixas no inverno, por causa da



Figura 7.25. Principais fatores que regulam a disponibilidade de N-mineral no solo. (\rightarrow) diminuem; (\rightarrow) aumentam.

baixa mineralização, e elevam-se na primavera com a mineralização da matéria orgânica. Diminuem no verão devido à maior absorção pelas plantas e aumentam novamente no outono quando o crescimento da planta cessa e os resíduos de cultura começam a se decompor no solo.

A dinâmica e o controle da mineralização e imobilização já foram discutidos e, como visto, esses processos opostos determinam os teores de N-mineral no solo, dificultando a estimativa de N-mineralizável ou N disponível. Entre os vários métodos propostos, a incubação do solo por 12 a 32 semanas é o mais empregado, aplicando-se modelos matemáticos para estimar o potencial de mineralização de N do solo (N_0), definido como a fração do compartimento de N considerada suscetível à mineralização naquele período. Esse processo segue uma cinética de primeira ordem conforme modelo exponencial simples, como já discutido no item 5.8 deste volume. Valores típicos para N-mineralizado (N_m) variam de 11 a 383 mg N kg⁻¹, com média de 130 mg N kg⁻¹ de solo, o que equivale a valores de 200 kg ha⁻¹ de N.

Os valores de N_0 relacionam-se com a ocorrência de formas orgânicas suscetíveis à mineralização e não necessariamente ao N-orgânico total do solo, assim dependem da natureza da MOS e não somente da sua quantidade. Os estudos indicam que entre 2 e 4% de N-orgânico total do solo é mineralizado por ano. Assim, para um solo de cerrado contendo, em média, 0,09% de N, o que equivale a 2.700 kg ha⁻¹ na camada arável (0-30 cm), liberaria de 50 a 100 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N. Em experimento com uréia (¹⁵N) incorporada ao solo anteriormente referido e plantado com milho, a quantidade de N mineralizada foi estimada em 54 kg ha⁻¹ durante o ciclo dessa cultura (Coelho, 1987). Deve-se ressaltar que N mineralizado é rapidamente oxidado em condições de solo aerado como visto nos itens anteriores.

A presença de plantas diminui os teores de N mineral no solo. Além da absorção direta, os níveis de NH_4^+ e NO_3^- podem ser alterados pela imobilização microbiana e desnitrificação na rizosfera e pela inibição da nitrificação por produtos excretados pelas raízes. Vários processos abióticos também contribuem para alterações nos teores de N mineral do solo, incluindo a fixação nas argilas e colóides orgânicos e reações com substâncias húmicas. O nitrato é a forma de N mais móvel no solo, e por não serem adsorvidas as partículas do solo, está sujeita à lixiviação. A magnitude da lixiviação de NO_3^- é difícil de estimar e depende de diversas variáveis, incluindo sua quantidade, a quantidade e a duração das chuvas, a taxa de infiltração e de percolação, a evapotranspiração, capacidade de retenção de água do solo e a densidade de plantas. A lixiviação é geralmente maior quando a precipitação excede a evaporação, facilitando o movimento descendente de materiais dissolvidos na solução do solo. Mudanças rápidas nos níveis de NH_4^+ podem ocorrer também como consequência da volatilização de NH_3 , cujas perdas são maiores em solos calcários e salinos, especialmente quando se aplicam fertilizantes amoniacais. A umidade adequada do solo contribui para menor volatilização. Também podem ocorrer perdas significativas de N-NO_3^- em consequência da desnitrificação mesmo em solos aerados nos microssítios, embora o processo seja mais intenso naqueles com metabolismo redutivo (inundados). Formas inorgânicas de N são muito pouco estáveis, dificilmente persistem no solo de uma estação para a próxima, exceto N-NH_4^+ em solos inundados.

O N aplicado ao solo como fertilizante sofre rápida dissipação, distribuindo-se na cultura (40 a 50% de N aplicado), na MOS (20 a 30%) e cerca de 25% é perdido por desnitrificação (20%) e lixiviação do solo (5%). Para evitar perdas excessivas de N, sempre é recomendado o parcelamento da adubação nitrogenada, além de outras práticas. Embora as perdas gasosas de N do solo contribuam para a regulação térmica da Terra, o uso freqüente e em grande quantidade de N-reativo na agricultura tem aumentado a emissão de seus óxidos para a atmosfera, e isso tem sido relacionado a impactos ambientais. O controle rigoroso da adubação e das práticas culturais que interferem na velocidade das transformações de N no solo precisa ser rigoroso e o uso de fertilizantes nitrogenados bem planejado para garantir a produtividade no campo e sem comprometer a sustentabilidade do planeta.

7.4. Fósforo

O fósforo (P) é um elemento importante a todas as formas de vida por fazer parte de biomoléculas como ácidos nucléicos e ATP. Os organismos vivos absorvem P na forma de ortofosfato solúvel, que no caso das plantas e dos organismos do solo, esse nutriente é obtido da solução do solo onde a concentração é geralmente muito baixa (2 a 5 μM). A absorção de P é um processo ativo que acontece contra um forte gradiente de concentração, tendo-se em vista que, no citoplasma, deve-se manter uma concentração entre 5 e 10 mM. Devido à alta exigência das plantas e à baixa disponibilidade no solo, esse nutriente é quase sempre muito limitante ao crescimento delas, que geralmente apresentam grande déficit nutricional de P.

O P se distribui de modo muito diferenciado nos vários componentes do planeta como apresentado a seguir para quantidades em 10^{12} kg: 840.000 nos sedimentos oceânicos, onde não é reciclado,

de 96 a 182 retido no solo, o segundo maior reservatório, 19 em rochas mineráveis, e apenas 2,6 na biota terrestre, sendo 1,8 estocado na fitomassa e 0,8 estocado na biomassa microbiana. Por exemplo, em uma floresta tropical com estoque de 240 kg ha^{-1} de P, 80% encontra-se na serapilheira, cuja reciclagem se dá pela mineralização dessa matéria, garantindo o fornecimento de P disponível para os seres vivos do ecossistema. Os fluxos estimados para outros compartimentos são (em $\text{kg} \times 10^9 \text{ ano}^{-1}$): entre a biota e o solo = 200; do solo para os oceanos = 17; das rochas para o solo = 19, e retirado pelas colheitas, apenas 5. O ciclo de P é aberto e flui das rochas para o fundo dos oceanos, tendo maior intensidade entre a biota e o solo. Em consequência do intemperismo químico de rochas e minerais e da atividade mineradora, o fluxo global de P já aumentou 400 vezes. Isso é motivo de grande preocupação devido aos potenciais efeitos ambientais de P como agente eutrofizante e recurso natural finito.

A principal fonte de P para os seres vivos são as rochas fosfáticas que constituem um recurso natural não renovável que precisa ter seu uso racionalizado, pois se estima que as reservas de P se esgotarão nos próximos 80 a 100 anos. Calcula-se que cerca de 75% do P aplicado ao solo são perdidos ou ficam retidos nas suas partículas, o que contribui para seu acúmulo nos solos cultivados. Há indicações de que, se a quantidade de P acumulado nos solos agrícolas pudesse ser disponibilizada para as plantas, seria suficiente para sustentar a produção agrícola mundial por cerca de cem anos.

7.4.1. Frações e transformações no solo

A reciclagem do P no solo tem estreita relação com os ciclos dos outros elementos via matéria orgânica. Devido à alta concentração de P nos microrganismos, que pode atingir, por exemplo, 2% da matéria seca nas bactérias, P é o segundo nutriente mais abundante na matéria orgânica do solo (MOS). De acordo com Stevenson (1986), esse elemento tem forte influência na imobilização de C e N em sistemas biológicos; o acúmulo de C, N, P e S na matéria orgânica depende do conteúdo de P no material de origem, exercendo, portanto, influência na fertilidade do solo. Por ser um recurso natural em exaustão e sem sucedâneo e com tendência a converter-se em formas estáveis em solo e sedimentos, para um aproveitamento mais racional desse recurso, é preciso conhecer as formas e o comportamento delas no solo.

Nos agrícolas, especialmente nos brasileiros, P, juntamente com N, representam os nutrientes que mais limitam a produção, sendo necessária a aplicação de grande quantidade desses elementos nas culturas. Na maioria dos solos, a maior parte do P ocorre em fração mineral ligada aos óxidos de Fe e Al nos solos ácidos, e a Ca nos neutros ou alcalinos. O P orgânico do solo varia de 3 a 90% de P total, dependendo do tipo de solo, ou de 1 a 3% da MOS, sendo encontrado principalmente na forma de fosfato de inositol, fosfolipídeos e nucleotídeos. As principais frações e respectivas quantidades de P e transformações no solo são apresentadas na **figura 7.26**. Observa-se que o estoque de P total e fracional pode variar muito, assim como as formas químicas predominantes. Para se ter melhor idéia da dinâmica de P no solo, uma alternativa é seu fracionamento seqüencial, como exemplo mostrado na **tabela 7.23** para latossolos cultivados e em condições naturais. Observa-se que a fração con-

siderada lábil e pouco lábil que engloba P-disponível e P-microbiano são maiores em dois dos solos quando cultivados (LV e LE), mas não no LR, originalmente rico nesse elemento. Os resultados mostram que a maior parte das reservas de P do solo é não lábil, estando quimicamente muito estável e difícil de tornar-se disponível às plantas. A fração lábil é geralmente menor que 5% de P do solo.

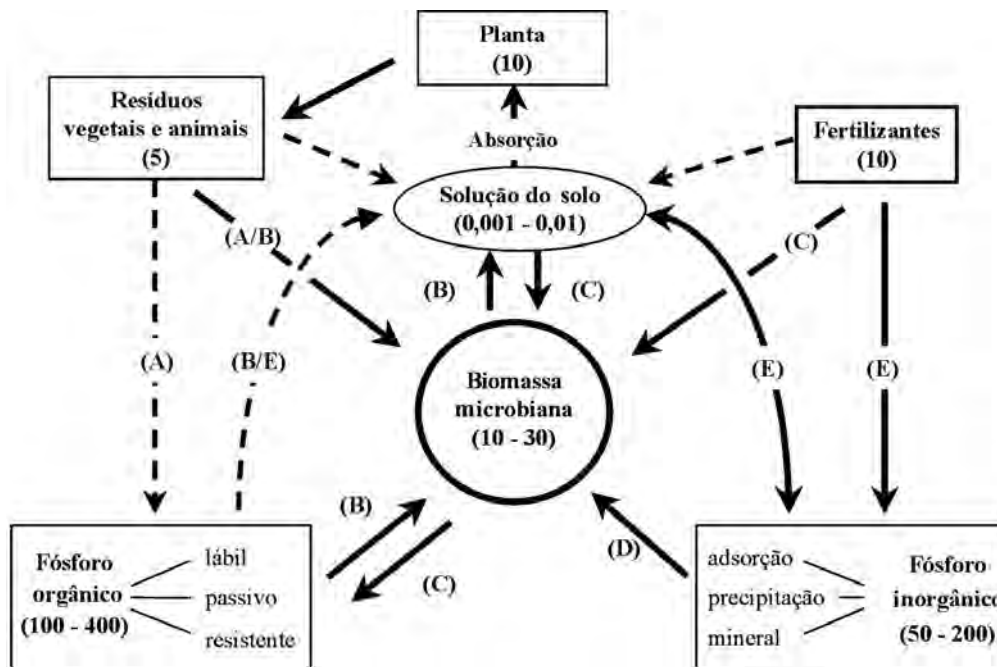


Figura 7.26. Principais frações e transformações de P no solo. O número entre parênteses indica a quantidade de P (kg ha^{-1} , 0-10 cm) das frações. A: decomposição; B: mineralização; C: imobilização; D: solubilização; E: adsorção e retenção/dessorção, precipitação/solubilização. (Modificado de Richardson, 1994, *apud* Paul & Clark, 1996.)

Como compilado em Siqueira & Franco (1988), em solos de cerrado cultivado que geralmente recebem de 50 a 150 kg ha^{-1} de P-fertilizante por ano, acumulam-se ao longo do período de cultivo, em média por hectare, em torno de 500 kg de P-retido ou fixado nas partículas do solo. Esse P é distribuído em: 40% ligado a Al; 30% ligado a Fe e 5 a 10% ligado a Ca. O estoque de P do solo encontra-se em equilíbrio com formas de P-lábil (3 kg ha^{-1}), que, por sua vez, está em equilíbrio com P na solução, cuja quantidade dificilmente atinge o equivalente a 1 kg ha^{-1} em dado momento. Distingue-se, ainda, um estoque de P-orgânico com algo em torno de 150 kg ha^{-1} de P que, no caso destes solos, corresponde de 10 a 30% de P-total. A quantidade de P absorvida por uma lavoura de milho, por exemplo, é muito pequena quando se considera o estoque total desse elemento no solo, porém elevada em relação a P na solução do solo. O que acontece é que o solo tem a capacidade de manter

Tabela 7.23. Fracionamento do P em latossolos com e sem cultivo (Dados de Motta, 1999).

Fração/Extração	LV		LE		LR	
	NC	C	NC	C	NC	C
P-Lábil	-----mg kg ⁻¹ de solo-----					
* Disponível (P _i + P _o NaHCO ₃)	24,4	34,8	24,4	34,8	59,0	23,0
* Microbiano (P _i + P _o NaHCO ₃ /CH ₃ Cl)	18,2	18,2	18,2	15,9	212	128
* Total de P-lábil	42,6	53,0	42,6	50,7	271	151
P-Pouco Lábil (P _i + P _o NaOH)	111,9	220,6	135	208	2035	1894
P-Não Lábil, insolúvel (P-HCl) mais estável (P-residual)	970,1	1038,3	1633	1361	2737	4248

LV - Latossolo Vermelho, LE - Latossolo Vermelho-Escuro; LR - Latossolo Roxo. NC - não cultivado; C - cultivado.
P_i = P inorgânico; P_o = P orgânico.

aquela concentração através do equilíbrio que estabelece entre as diversas formas e as quantidades aplicadas com o fertilizante. Como as plantas e os microrganismos absorvem P da solução do solo, os processos químicos abióticos e bióticos que controlam as transformações e absorção desse elemento são importantes fatores do seu ciclo e da produtividade agrícola.

Mesmo sendo encontrado em grande quantidade total no solo alcançando até 2.000 kg ha⁻¹ na camada arável e sendo absorvido em pequenas quantidades (de 30 a 40 kg para uma cultura de milho produzindo 8–10 Mg ha⁻¹) pelas plantas em relação a outros macronutrientes, adubações pesadas com esse nutriente são requeridas para obter boa produtividade em solos altamente intemperizados, onde P é pouco disponível. Isso é devido à maior parte de P dos solos intemperizados dos trópicos se encontrar na forma inorgânica e não lábil. Os mecanismos de transformação do P no solo envolvem, além da retenção ou fixação nas partículas do solo por processos químicos, a liberação ou solubilização da fração de transição (lábil), mineralização e imobilização biológica mediados pelos microrganismos. Apesar do forte envolvimento dos organismos nas transformações do P, os estudos da sua dinâmica têm sido predominantemente químicos e com pouca ênfase nos processos biológicos. Porém, a atuação, de maneira direta ou indireta, dos microrganismos no ciclo do P e sua influência na capacidade de fornecimento do solo e absorção pelas raízes são bastante evidentes. Os microrganismos influenciam desde as transformações de P no solo ou na rizosfera até a absorção e translocação na planta (**Figura 7.27**). As transformações de P, portanto, representam um sistema complexo controlado por reações químicas com forte interferência biológica como: mineralização, imobilização e absorção, processos que controlam a dinâmica das transformações e os fluxos do elemento no ambiente. Deve-se ressaltar que, apesar de pouco reativo no solo, P, quando atinge os corpos d'água, geralmente arrastados pela erosão ou como rejeitos diversos, exerce grande impacto ambiental nos ecossistemas. Esse elemento é o principal agente de eutrofização dos mananciais hídricos, onde o enriquecimento favorece o crescimento de algas, que tem conseqüências adversas à qualidade da água.

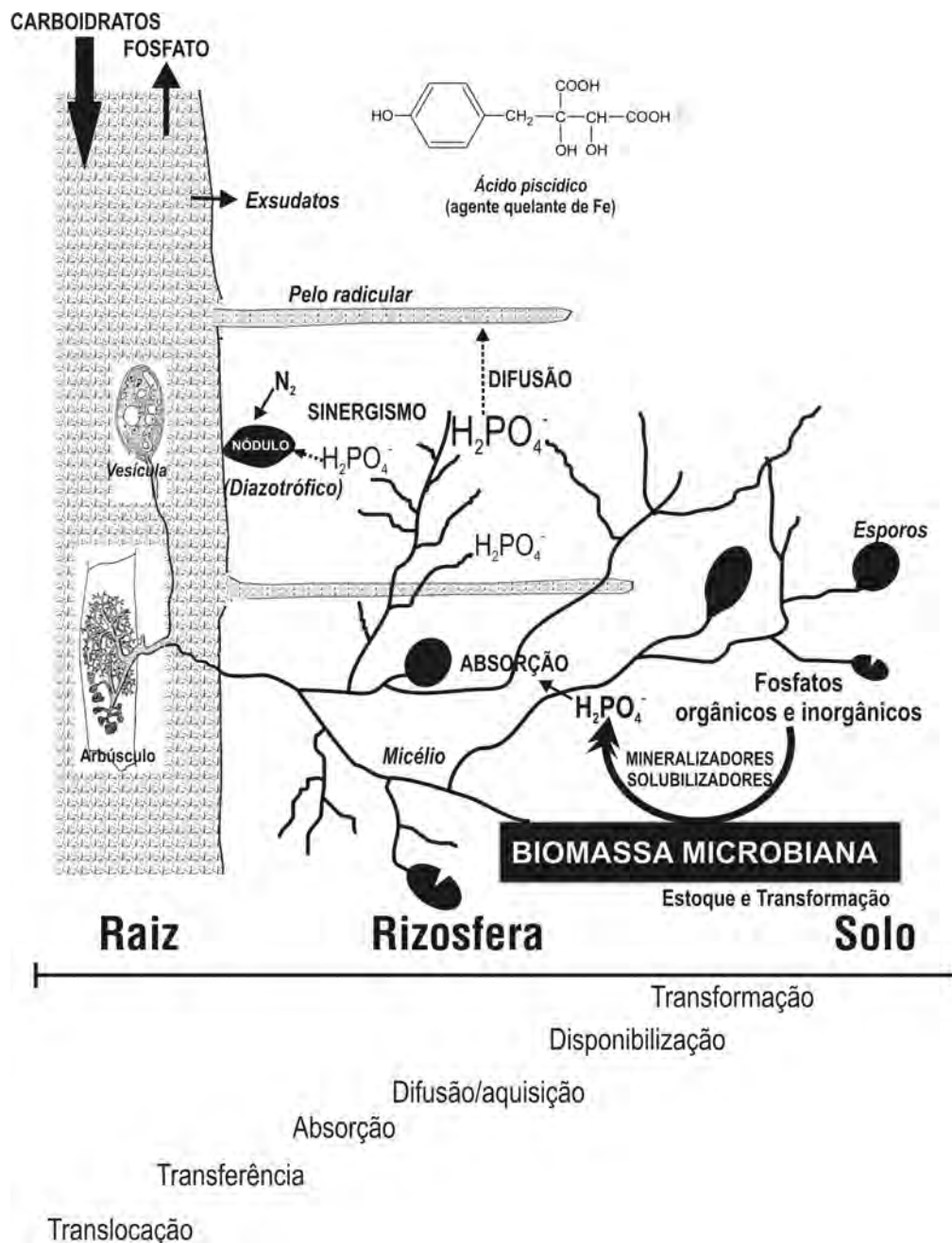


Figura 7.27. Processos biológicos que regulam a disponibilidade do fósforo na rizosfera e sua aquisição pelas raízes, destacando-se a atividade dos microrganismos heterotróficos do solo e os fungos micorrízicos.

7.4.2. A mineralização e imobilização biológica de fosfatos

A atividade microbiana é responsável pela mineralização de P orgânico e atua também em outros processos no solo. Diversos microrganismos, incluindo isolados de bactérias, actinomicetos, fungos e protozoários, são capazes de hidrolisar P de muitos compostos orgânicos através da produção de fosfatases, cuja atividade pode ser um indicador da transformação da MOS, através do estabelecimento da relação entre a cinética da fosfatase e a taxa de decomposição. O estoque de P-orgânico que compreende P da MOS morta e da biomassa, é de grande interesse para a dinâmica e ciclagem desse elemento, necessitando ser mais bem estudado nos solos tropicais.

O P da biomassa microbiana pode ser determinado por vários procedimentos, como através da fumigação-extração conforme apresentado no capítulo 3, empregando NaHCO_3 a pH 8,5 ou, também, pelo conteúdo de ATP. Este é tido como componente celular que ocorre em todas as células microbianas vivas, em concentração uniforme, em média $12 \mu\text{mol}$ de ATP g^{-1} de biomassa C. O conteúdo de ATP da célula microbiana, por si só, tem sido utilizado como indicador da atividade metabólica das populações microbianas no ambiente. Células microbianas em estado quiescente apresentam as seguintes relações de C, N, P e S para cada ATP de 250; 40; 9 e 2,6 respectivamente. Como essas relações sofrem pequena flutuação, o ATP torna-se uma boa medida de biomassa e de seu estado de atividade. No entanto, essa avaliação é adequada para caracterizar solos cujas populações microbianas crescem sem limitação de P. Os valores de ATP podem não ser indicadores fiéis do estado metabólico de um organismo ou de uma população, uma vez que apenas uma parte da população poderá estar em crescimento. Por isso, tem sido proposto que a carga energética do adenilato seja empregada como indicador do estado de atividade da população, dada pela equação $[(\text{ATP}) + 0,5 (\text{ADP})] / [(\text{ATP}) + (\text{ADP}) + (\text{AMP})]$. Seu valor, segundo faixa obtida a partir de dados de vários autores, é de 0,8 a 0,95, mas tem tido aplicação limitada na Bioquímica do Solo por serem as medições do ATP laboriosas e requererem equipamentos e reagentes especiais.

Apesar da pequena quantidade de P nos seres vivos, esse estoque, também conhecido por “P-biológico” do solo, apresenta intenso fluxo devido à rápida reciclagem. Durante a reciclagem do material orgânico no solo, parte vai para a biomassa microbiana que, apesar de ser um reservatório pequeno de P, representa elevada taxa de reciclagem. Considerando a taxa de reciclagem de P, Siqueira et al. (2004) calcularam que a biomassa microbiana recicla cerca de 70 vezes mais P por ano que a fitomassa, colocando em evidência a importância dos processos biológicos no ciclo desse elemento. O fluxo de P em $\text{kg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ na biomassa é de 23 em solos sob pastagem e $7 \text{kg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ em solos cultivados. O P microbiano encontra-se principalmente na forma de ácidos nucleicos e fosfolípidos e a razão $P_{\text{mic}}/P_{\text{org}}$, que corresponde ao P da biomassa como porcentagem de P orgânico total do solo, é um indicador da labilidade de P. Os valores médios de P microbiano para solos agricultáveis são de 3%; em solos de pastagens 14% e, em solos de floresta, podem atingir 20%. A relação C:P da biomassa pode variar de 1 a 36, tendo valor médio de 14.

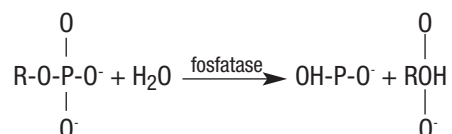
Estudos sobre a biomassa microbiana de P e conteúdo em ATP da biomassa sob efeito da incorporação de restos vegetais ao solo registraram ampla flutuação de ATP (7 a $21 \mu\text{mol}$ de ATP g^{-1} de biomassa de C) e indicaram que a aplicação de palha não aumentou a concentração de ATP na bio-

massa. No entanto, em solos da região tropical seca da Índia, a incorporação de resíduo de trigo + NPK aumentou em 81% a biomassa-P em relação ao controle (Singh & Singh, 1993). A faixa da razão P_{mic}/P_{org} determinada neste estudo foi de 5,8 a 8,2 e a relação C:P, de 24. P da biomassa microbiana varia de 2 a 20% de P-orgânico, representando de 10 a 100 kg ha⁻¹ e tem taxa de circulação em torno de 1,25 ano, representando um fluxo médio de 16 kg de P ha⁻¹ ano⁻¹, podendo alcançar até 50 kg ha⁻¹ ano⁻¹, um valor elevado, portanto, quando se considera a pequena quantidade desse nutriente absorvido pelas culturas.

A mineralização é influenciada por inúmeros fatores, em especial pelas condições ambientais que interferem na densidade e atividade microbiana e pela mineralogia do solo. Nos solos minerais ácidos, a maior parte de P liberado é rapidamente fixada na fração inorgânica. Transformações intermediárias ou resultantes da imobilização biológica de P liberado pela mineralização são representativas, podendo contribuir para a fração lábil de P no solo. A adição de matéria orgânica favorece a decomposição de determinadas frações das substâncias húmicas nativas, ocorrendo liberação de P. Esse fenômeno é conhecido como “efeito priming”, já discutido.

A conversão assimilatória de P inorgânico para compostos orgânicos, processo conhecido como imobilização, ocorre sempre que há produção de biomassa. Isso sucede de maneira muito rápida com taxa de conversão de Pi para P-orgânico de 6 µg de P g⁻¹ de solo semana⁻¹, sendo essa taxa inversamente proporcional à quantidade de P-microbiano da célula, através de um processo auto-regulado. A imobilização de fosfato é mais provável de se dar quando o ortofosfato disponível no solo estiver em concentração abaixo do exigido pela microbiota. Essa concentração, no entanto, não é conhecida, mas a quantidade de P imobilizada é diretamente relacionada à de biomassa. Proporcionalmente, os microrganismos absorvem mais P mineralizado que as plantas, tendo em vista que a microbiota tem entre 10 e 20 mg P kg⁻¹ de matéria seca, enquanto as plantas têm apenas 0,5 a 1,0 mg kg⁻¹. A decomposição e a mineralização de P no solo ocorrem simultaneamente com a de C e seguem a mesma dinâmica discutida para N. Mas, como o requerimento relativo de P da microbiota é menor que o de N, a imobilização líquida de P do solo só ocorre quando a relação C/P do material for muito alta, superior a 300, ou quando a concentração de P no resíduo for muito baixa, inferior a 2 mg kg⁻¹ de P na matéria seca. A relação C:P dos materiais vegetais varia bastante, por exemplo de 260:1 para alfafa e de 600:1 para milho. A relação C:P do solo varia de 30 a 40:1, enquanto a da microbiota é cerca de 14:1. Há indicações de que mesmo considerando a grande quantidade de bactérias na rizosfera (3 µg mg⁻¹ raiz) e seu alto teor de P (3%), P-imobilizado na biomassa corresponde apenas a 3% da absorção diária do nutriente pelas plantas (3x10⁻⁶ mg g⁻¹ raiz dia⁻¹). Portanto, é pouco provável que o processo mineralização/imobilização resulte em imobilização líquida de P da solução, causando prejuízo às plantas.

A principal fração de P-mineralizável no solo é a biomassa, tendo indicação que até a metade desse P pode ser mineralizada por ano. A mineralização é feita pelos microrganismos heterotróficos comuns que produzem enzimas do tipo fosfatases, nucleases e fitases que atacam, por exemplo, ésteres fosfatados e fosfato de inositol (derivado do ácido fítico) liberando HPO₄²⁻ para a solução, conforme ilustração seguinte:



A grande maioria dos heterotróficos do solo tem ação mineralizadora, sendo mais comuns os produtores de fitases. Os fungos, em geral, possuem maior atividade hidrolítica de fitatos que as bactérias, embora as fitases sejam também produzidas por bactérias, plantas e animais. As nucleases são produzidas, principalmente, pelos microrganismos rizosféricos e as fosfolipases pelos actinomicetos. Nahas et al. (1994), estudando a população de fungos e bactérias mineralizadoras de P em solos do Estado de São Paulo, verificaram que a proporção de bactérias produtoras de fosfatases passou de 3% do número total de UFC num solo de floresta com pH 3,8 para 17% em outro solo também sob floresta com pH 6,4. A proporção de fungos produtores dessas enzimas caiu de 31 para 17% nestes mesmos solos. Naqueles cultivados com pH variando de 4,6 e 5,7, entre 50 e 58% dos fungos produziam fosfatases. A atividade de fosfatase ácida foi duas vezes maior que a de fosfatase alcalina e a razão da atividade fosfatase ácida/alcalina caiu de 2,8 para 1,1 do solo ácido para solo próximo da neutralidade. A atividade dessas enzimas correlacionou-se com teores de P, matéria orgânica e pH do solo.

O controle da atividade hidrolítica de fosfatos orgânicos é feito pela disponibilidade de P, fonte de carbono e pH do solo (Stevenson, 1986), destacando-se em função do último as fosfatases ácidas e alcalinas. Um aspecto importante é que, embora fitato possa ser ótima fonte de P para os microrganismos, e as fitases serem produzidas por vários seres vivos no solo, sua decomposição pode ser muito limitada devido às reações de adsorção e precipitação com metais formando fitatos insolúveis.

Os microrganismos são a principal fonte de enzimas mineralizadoras de fosfatos. A síntese e a atividade das fosfatases microbianas são reguladas por P: são reprimidas em condições de alto P e estimuladas em condições limitantes do nutriente. O estresse causado pela falta de P interfere na expressão de cerca de 400 proteínas em células microbianas, por meio de dois sistemas reguladores conhecidos por *PhoB* e *PhoR*. *PhoR* atua como sensor que regula a atividade do *PhoB*, que controla genes envolvidos na aquisição de P pelas células. A deficiência de P atua no *PHO-box* (*regulon* multigênico) que controla, por exemplo, a produção de fosfatase alcalina. Isso permite aos microrganismos absorver P mesmo em condições de baixa disponibilidade, acumulando-o em sua massa. Ao final do ciclo, P acumulado será mineralizado e disponibilizado. Esse processo é conhecido por “mineração biológica de P” (*biological P mining*), sendo de grande importância para os seres vivos em condições de extrema deficiência de P.

Assim como ocorre para outros elementos, as frações de P-orgânico do solo apresentam diferentes suscetibilidades à mineralização. As frações moderadamente lábeis contribuem com 80 a 90% do P mineralizado. A mineralização de P difere bastante em relação às condições ambientais. Estima-se que no clima temperado a mineralização de P varia de 1 a 10% por ano do total orgânico, enquanto nos trópicos essas taxas atingem 15 a 20% de P-orgânico, representando importante mecanismo para a dispo-

nibilidade do nutriente. A mineralização nos trópicos é favorecida pelas temperaturas mais elevadas que auxiliam o processo de biooxidação da matéria orgânica e pelas estações úmidas e secas distintas. Há indicações, ainda não confirmadas experimentalmente, de que P-orgânico dos solos tropicais seja mais lábil que o dos solos de clima temperado. Apesar das evidências da mineralização, a contribuição quantitativa e relativa desse processo para a nutrição das culturas é ainda pouco conhecida.

7.4.3. Solubilização de fosfatos no solo

Vários grupos de microrganismos do solo ou da rizosfera são capazes, por meio de mecanismos diversos, de extrair ou solubilizar P de frações insolúveis no solo e de fosfatos inorgânicos naturais pouco solúveis. A solubilização de P pode resultar da produção de 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 CO_2 transforma-se em H_2CO_3 , que solubiliza fosfatos de Ca e Mg. Outros mecanismos, como a produção de ácidos inorgânicos (H_2S , H_2SO_4 e HNO_3), são também importantes na solubilização dos fosfatos inorgânicos, especialmente de compostos fosfatados primários no solo.

A capacidade dos microrganismos em solubilizar os fosfatos inorgânicos é conhecida desde 1908, quando Sackett e colaboradores chamavam a atenção para a ação solvente do solo. Atualmente, sabe-se que ela é de ocorrência generalizada, tanto nos heterotróficos quanto nos autotróficos do solo. Os estudos sobre os microrganismos solubilizadores de P (MSP) evoluíram substancialmente após o desenvolvimento de métodos para visualização desse processo em placas. Embora exista maior número de bactérias solubilizadoras do que de fungos, estas apresentam maior capacidade de solubilização. Esta oferece grandes possibilidades biotecnológicas, mas ainda se encontra em fase experimental, embora processos como o *Biosuper* já tenham sido desenvolvidos em outros países, como na Austrália e na Índia. O *Biosuper* consiste na mistura de rocha fosfática com enxofre elementar na proporção de 5:1 e, no solo, S é oxidado, formando ácido sulfúrico que solubiliza a rocha. Já microrganismos capazes de mineralizar ou solubilizar fosfatos orgânicos conhecidos como *fosfobacterinas* foram utilizados como inoculantes de solo na Rússia e na Índia. Entretanto, devido a resultados inconsistentes, seu emprego como agentes capazes de aumentar a disponibilidade de P nunca foi devidamente demonstrado nos países ocidentais. Diversas bactérias são reconhecidamente solubilizadoras de fosfato, como espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* (fosfobacterinas), empregadas como inoculantes. No entanto, carece de 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 (Tabela 7.24). Os solubilizadores estão presentes em todos os solos, onde representam até 15% da população microbiana. A solubilização de P é uma competência ubíqua da microbiota, alcançando de 40 a 70% dos isolados de sementes, de 10 a 40% de isolados de rizosfera e de cerca de 20% de isolados do solo. Essa capacidade existe até mesmo entre os fitossimbiontes, como rizóbio e fungos micorrízicos.

Tabela 7.24. Exemplos de microrganismos do solo capazes de solubilizar fosfatos (Subba Rao, 1982).

Bactérias: *Bacillus pulvifaciens*, *B. megaterium*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. mesentericus*, *B. fluorescens*, *B. polymixa*, *Pseudomonas putida*, *P. straita*, *P. calcis*, *P. liquifaciens*, *P. rathonia*, *Escherichia freundii*, *E. intermedia*, *Xanthomonas* sp., *Thiobacillus thiooxidans*, *Serratia* sp., *Achromobacter* sp., *Aerobacter aerogenes*, *Nitrosomonas* sp.

Fungos: *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *Penicillium lilacium*, *P. digitatum*, *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Humicola* sp., *Pythium* sp., *Acrothecium* sp., *Mortierella* sp., *Rhizoctonia* sp., *Cunnighamella* sp., *Cladosporium* sp.

Actinomicetos: *Streptomyces* sp.

Como discutido por Nahas (1999), a solubilização depende da linhagem do microrganismo, do tipo de fosfato a ser solubilizado, da acidez e da natureza dos materiais orgânicos produzidos. De modo geral, a solubilização é relacionada à diminuição do pH e/ou à produção de ácidos orgânicos, existindo cinco situações distintas, a saber:

- a) solubilização depende da acidez total. Isso acontece com *Aspergillus niger* e *Sclerotium rolfsii* e vários tipos de fosfatos;
- b) solubilização independe da acidez total. Ocorre, por exemplo, em *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Penicillium*, indicando outros mecanismos que não a produção de ácidos;
- c) solubilização depende da diminuição do pH. Isso ocorre com vários fungos e bactérias;
- d) solubilização independe da diminuição do pH. Também se observa em vários fungos e bactérias solubilizadoras;
- e) solubilização depende mais da natureza dos ácidos orgânicos produzidos que da acidez total, como verificado com vários fungos solubilizadores.

A competência para a solubilização varia entre as espécies microbianas e as formas químicas de fosfato. A maioria é capaz de solubilizar fosfatos de cálcio, mas poucos são capazes de solubilizar fosfatos de Al e Fe. Agnihotri (1970) avaliou a capacidade solubilizadora de 18 espécies fúngicas do solo, observando que a percentagem de P solubilizada variou de 0 a mais de 80% para fosfato tricálcico e fluorapatita e de 0 a 58% para hidroxiapatita, e que dos fungos avaliados entre 60 e 80% dos isolados foram capazes de solubilizar tais fontes, sendo a liberação de ácidos orgânicos o principal mecanismo de solubilização. Esse mesmo estudo revelou também que vários fungos não tiveram ação solubilizadora ou solubilizaram pequenas quantidades de P. No caso de rochas fosfáticas o mecanismo principal de solubilização biológica é resultante da redução do pH.

O conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos na solubilização de fosfatos, como a identificação de genes específicos ou *regulons* (multigênicos), abre oportunidades para a aplicação da

Biotecnologia no uso de P. Genes solubilizadores de fosfatos *mps* já foram identificados e clonados em várias bactérias (Gyaneshwar, 1998). No entanto, bactérias recombinantes expressando esses genes ainda não foram bem estudadas e, certamente, enfrentarão problemas para aprovação pelos órgãos reguladores da biossegurança de organismos geneticamente modificados, pois o escape/disseminação dos genes *mps* oferece riscos de aumentar a descarga de P nos corpos d'água, elevando a eutrofização. Outros genes com ações solubilizantes indiretas têm sido trabalhados como: gene para expressão da citrato sintase (maior liberação de ácido cítrico), GDH-glicose desidrogenase (síntese do ácido glicônico), conferindo ambos maior capacidade de mobilização de P. Outros genes como os envolvidos na absorção de P, são também de grande interesse como aqueles que controlam proteínas transportadoras de P que podem ser inseridos em fungos ou plantas, e genes para expressão de fitase extracelular, que também podem ser clonados. Já existem plantas transgênicas expressando os genes para proteínas transportadoras, que exibiram alta capacidade em absorver P de concentrações muito baixas. Genes de fitase têm sido empregados para aumentar a degradação desses compostos na criação de suínos visando reduzir o teor de P nos rejeitos.

Em se tratando da aplicação dos microrganismos solubilizadores de fosfatos (MSPs), Richardson (2001) aponta duas estratégias básicas: a) o manejo da população indígena para otimizar a capacidade deles em mobilizar o P não disponível, e b) o desenvolvimento de inoculantes microbianos específicos. Para a primeira estratégia, é importante conhecer a abundância, a diversidade e a competência de populações indígenas de MSPs, que são muito variáveis em função das condições ambientais, tipo de cultivo e plantas. A incidência de solubilizadores de fosfatos de cálcio é geralmente maior na rizosfera de leguminosas. Segundo Sylvester-Bradley et al. (1982), na rizosfera de *Brachiaria decumbens* e *Hyparrhenia rufa* é encontrada menor incidência de solubilizadores (23 e 32% dos isolados respectivamente), enquanto nas leguminosas *Zornia* e *Desmodium*, encontraram-se as maiores incidências (85 e 54% dos isolados) de solubilizadores. A tendência de maior incidência de MSPs na rizosfera de leguminosas pode contribuir para o melhor aproveitamento de P do solo por essas plantas. Embora a ocorrência de MSP na rizosfera varie entre as diferentes plantas, não há evidência de especificidade alguma desses com as plantas. Portanto, os MSPs, são abundantes no solo, mas não foram encontrados estudos direcionados ao manejo visando otimizar a atividade desse grupo de organismos.

Desde os primórdios do estudo sobre os MSPs, tem-se buscado o desenvolvimento de inoculantes de solubilizadores. O primeiro desenvolvido foi a "fosfobacterina", que consistia em culturas de estirpes de *Bacillus*, especialmente *B. megatherium* var *phosphaticum*. Apesar de terem sido amplamente empregados nas sementes, por meio da técnica chamada "bacterização", os resultados produzidos eram inconsistentes, sem relação com a melhoria do estado nutricional (absorção de P pelas culturas). De fato, ficou demonstrado que os efeitos desses inoculantes eram, em sua grande maioria, devidos à produção de hormônios, à fixação de nitrogênio, à ação bioprotetora, e, não, à disponibilização de P do solo como se preconizava. Por isso, o uso de fosfobacterinas é considerado um equívoco (Goldstein, 1986). Estudos mais recentes relatam aumento da produção mediado por melhoria da nutrição fosfática em vários experimentos (Gyaneshwar et al., 2002), mas os resultados são ainda inconsistentes e não conclusivos, e as razões para isso são:

- a) dificuldades de sobrevivência e colonização dos MSPs introduzidos na rizosfera;
- b) competição com a população indígena;
- c) natureza e propriedades do solo e da cultura pouco compatíveis com os MSPs;
- d) falta de nutrientes no solo para produzir os agentes ativos (ácidos orgânicos) em quantidade suficiente para ter ação solubilizadora;
- e) falta de competência para mobilizar as fontes existentes no solo.

Atualmente, existem inoculantes comerciais no mercado, os quais constam de estirpes de *Penicillium bilaii* e *P. radicum* produzidos pela *Philom Bios Inc.*, do Canadá, e SGB Austrália Pty Ltda. Além desses inoculantes específicos, a co-inoculação de plantas com MSPs e fungos micorrízicos ou bactérias diazotróficas (rizóbio) pode apresentar relação sinérgica no crescimento das plantas.

Passado quase um século da descoberta dos MSPs, a inoculação em larga escala com esses organismos ainda não é praticada, mas, do conhecimento disponível, pode-se concluir que:

- a) a competência para solubilização de fosfatos inorgânicos atinge grande proporção da população microbiana do solo;
- b) a produção de ácidos orgânicos é o principal mecanismo de solubilização, mas não é o único;
- c) a população de MSPs é favorecida na rizosfera, porém sem qualquer indício de especificidade;
- d) a relação entre a presença de MSPs e disponibilidade de P no solo é difícil de ser comprovada;
- e) o emprego de “fosfobacterinas” foi um equívoco (compromete a ciência);
- f) a ampliação do conhecimento sobre os genes reguladores da aquisição e solubilização de fosfatos pode trazer grandes avanços para a contribuição da microbiota do solo na nutrição fosfática das plantas. Isso pode facilitar o desenvolvimento de organismos geneticamente modificados (DNA recombinante) para melhor aproveitamento de P pelas plantas.

7.4.4. Absorção e acessibilidade a P pelas plantas

A eficiência de absorção é um fator importante no uso do fósforo do solo e na racionalização da adubação fosfatada. Os microrganismos, por meio de mecanismos diversos, exercem profunda influência na aquisição de P pelas plantas, atuando na disponibilidade e na aquisição do nutriente. A presença de microrganismos na rizosfera geralmente facilita a absorção de P, mas há evidências de que a translocação na planta pode ser reduzida (ver capítulo 8). Os microrganismos, além de aumentar a disponibilidade de P, podem facilitar a absorção e acessibilidade a esse por meio de vários mecanismos. Diversas bactérias causam alterações biológicas na rizosfera e fisiológicas nas plantas, em especial nas raízes, que resultam de sua melhor absorção de P (Figura 7.26). Os fungos, particularmente aqueles que se associam às raízes formando as micorrizas, aumentam a absorção de P através de mecanismos físicos (maior exploração do solo e de sítios não acessíveis às raízes sem micorrizas), fisiológicos (alterações nos parâmetros cinéticos de absorção) e químicos (alterações na rizosfera). Esses aspectos serão abordados no capítulo 10 deste volume.

Esforços multidisciplinares têm sido feitos no sentido de aumentar a eficiência das rochas fosfatadas, como matéria-prima para a indústria de fertilizantes, bem como dos fertilizantes manufaturados aplicados ao solo. A eficiência dos fosfatados no solo é baixa, de apenas 20% no primeiro ano de aplicação nos solos minerais ácidos dos trópicos devido à elevada fixação de P aplicado e à baixa absorção pelas raízes. Ao mesmo tempo em que os microrganismos podem aumentar a absorção de P fornecido às plantas, podem reduzir a quantidade de P disponível para a fixação nos colóides, reduzindo a retenção desse elemento nos compartimentos estáveis do solo. Isso decorre de vários mecanismos que podem ser mediados pelos microrganismos, como ilustrado na figura 7.26, destacando-se dois efeitos. Primeiro, a maior absorção pelas raízes e a maior imobilização na biomassa microbiana (P-orgânico). Isto resulta em menos P em solução e menor fixação no solo. Como a fração imobilizada na biomassa é mineralizada facilmente, esse processo se torna de grande importância no fluxo do elemento entre o solo e a planta. Deve-se lembrar que, para se ter boa quantidade de biomassa, o solo tem que receber manejo correto e aporte adequado de matéria orgânica; e, em segundo, da produção de substâncias húmicas durante a decomposição da MOS que podem competir com os íons H_2PO_4^- por superfície de adsorção, constituindo uma superfície protetora sobre os sesquióxidos coloidais, formando complexos do tipo fosfohumatos menos estáveis. Isso contribui para menor fixação do P e para aumentar P-lábil no solo.

Também é importante ressaltar que a adição de materiais orgânicos ao solo e incluindo a adubação verde, além de fornecer nutrientes e promover melhoria nas condições físicas, podem reduzir a fixação de fosfatos e aumentar a eficiência de utilização do P do solo pelas plantas. Nesse caso, há o envolvimento de processos químicos também muito importantes. Melhor entendimento desses mecanismos poderá, em adição às modificações nas práticas agrônômicas e nas tecnologias industriais, contribuir para melhor uso de P dos fertilizantes pelas culturas e minimizar seus riscos ambientais. Como as reservas de fosfatos conhecidas são finitas, qualquer estratégia que prolongue sua vida útil terá grande impacto para a existência humana no planeta.

Apesar do conhecimento sobre o envolvimento dos microrganismos no ciclo de P, exercendo grande influência na sua disponibilidade para as plantas, existe uma situação contraditória. Se os microrganismos mineralizadores e solubilizadores de fosfatos e fungos formadores das micorrizas arbusculares são tão abundantes e de ocorrência tão generalizada no solo, que é por sua vez, a segunda maior reserva de P do planeta, porque as plantas têm seu crescimento tão limitado por esse elemento? Avanços científicos sobre os mecanismos envolvidos em tais processos, suas interações e fatores reguladores poderão fornecer as explicações para esse paradoxo e permitir o desenvolvimento tecnológico para maximizar o aproveitamento de P do solo. Estima-se que as reservas de P minerável do mundo são suficientes para cerca de mais 80 a 100 anos, enquanto P retido nos solos agrícolas seria suficiente para 100 anos de cultivo, se fosse possível mobilizar tal reserva para uso das plantas.

Como visto, a ação facilitadora dos microrganismos para a nutrição fosfatada das plantas resulta de diversos mecanismos que atuam sinergicamente nas reservas de P (orgânica e inorgânica), na sua disponibilização para a solução do solo e nos mecanismos de sua aquisição pelas raízes. No solo, mineralizadores e solubilizadores contribuem para aumentar a concentração de P na solução,

que pode ser absorvido diretamente pelas raízes ou por hifas fúngicas em simbiose com essas. O maior aporte de P estimula bactérias diazotróficas, aumentando de modo sinérgico, a aquisição de N pelas plantas capazes de fixá-lo. Entretanto, a aplicação dos processos facilitadores da absorção de P em larga escala é muito problemática e extremamente limitada, e isso ainda requer grandes avanços científicos. O melhor entendimento dos processos de mobilização de P *in situ* e a manipulação genética – visando obter microrganismos e plantas transgênicas com alta capacidade de solubilização e de aquisição de fosfatos do solo – podem trazer avanços reais, permitindo a manutenção da produtividade das culturas, enquanto reduz a necessidade de aplicação de quantidade elevada de P ao solo. Isso prolongaria a vida útil desse recurso natural estratégico e em exaustão.

7.5. Enxofre

O enxofre é também um elemento essencial para todos os seres vivos, pois é necessário para a síntese de aminoácidos que constituem as vitaminas, os hormônios e as enzimas. Tal como ocorre com N, S está sujeito a inúmeras transformações biologicamente mediadas no solo, conforme ciclo simplificado na **figura 7.28**. Enquanto o maior estoque de N disponível para os processos biológicos está na atmosfera, o de enxofre encontra-se na litosfera, que contém 24×10^{21} g de S. Apesar de a biosfera conter apenas $3,6 \times 10^{12}$ g de S, sua maior parte está na atmosfera, por causa das atividades humanas, como a queima de fósseis e da vegetação, predominando na forma de SO_2 , que pode ser absorvido diretamente do ar pelas plantas ou levado ao solo pela chuva. Em presença de umidade, o gás combina-se prontamente com a água formando ácido sulfuroso (H_2SO_3), porém esse ácido é logo oxidado para H_2SO_4 pelos organismos oxidantes de S. No solo, estima-se existir $2,6 \times 10^{17}$ g de S, deste, $1,0 \times 10^{16}$ g encontra-se na MOS onde ocorre tanto nas formas orgânicas quanto nas inorgânicas. Nas plantas terrestres, encontram-se $7,6 \times 10^{14}$ g de S.

A quantidade de S nas duas formas varia muito, dependendo das condições do solo (pH, drenagem, composição mineralógica, teor de matéria orgânica) e profundidade no perfil. Em forma inorgânica, predomina nos solos o SO_4^{2-} , embora compostos de oxidação mais baixos sejam também encontrados como sulfetos (ex.: FeS), sulfito, tiosulfito e S elementar. Em solos alagados, o S inorgânico encontra-se em formas mais reduzidas, como H_2S , FeS e FeS_2 . Também importante fração de S em solos calcários e salinos ocorre como gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Grande quantidade de S é liberada na combustão dos fósseis e concentrações elevadas encontram-se próximos às áreas industriais onde a quantidade retornada ao solo é também maior. Estas deposições variam com o local e com a estação do ano. S é perdido do solo principalmente pela lixiviação, dependendo o grau em que o SO_4^{2-} é perdido da precipitação, capacidade de retenção do sulfato do solo, características de drenagem, presença e tipo de vegetação e imobilização na microbiomassa. Outras perdas incluem erosão, retirada pelas culturas, produção de H_2S e compostos de S voláteis orgânicos.

Alterações no ciclo desse elemento têm implicações práticas de grande interesse. A principal fonte original de S no solo é a pirita (FeS_2), que ocorre em rochas ígneas. Durante o intemperismo e formação do solo, S da pirita sofre oxidação para formar SO_4^{2-} , que é assimilado pelas plantas e pelos

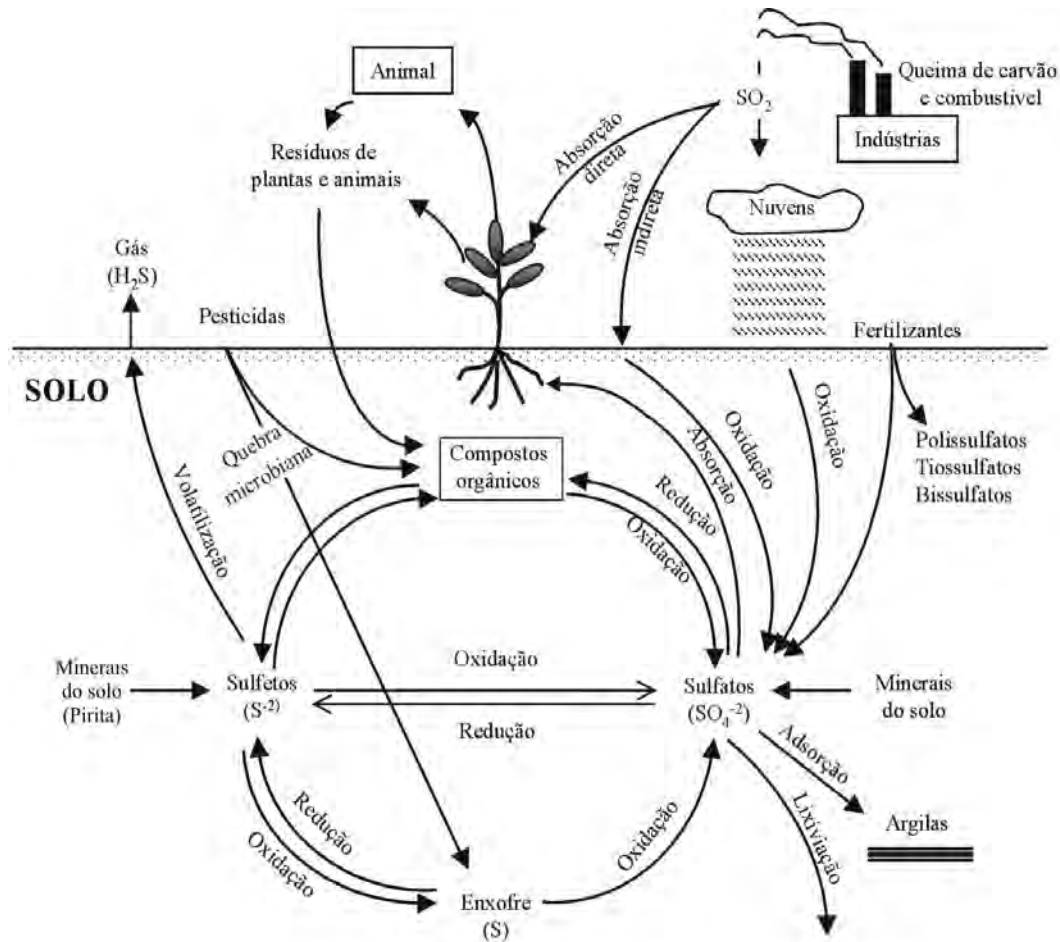
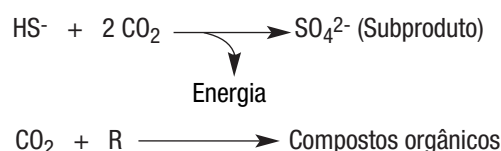


Figura 7.28. Ciclo generalizado do enxofre mostrando as principais transformações no solo. (Stevenson, 1986.)

microrganismos, convertendo-se em forma orgânica. Esse é um elemento essencial às plantas, cujas deficiências têm-se tornado mais frequentes devido aos fatores abaixo:

- maior uso de fertilizantes em fórmulas sem S;
- redução na quantidade de S usado como pesticida;
- rendimentos mais altos das culturas e perdas da matéria orgânica do solo;
- redução na quantidade de S que atinge o solo em água de chuva ou deposição seca, pela adoção de sistemas de controle de emissão de dióxido de S na atmosfera, oriundos da queima de combustíveis fósseis e pelas usinas e indústrias.

S existe em várias formas e estados de oxidação e sofre semelhantes transformações biológicas, assim como se verifica para N, incluindo a volatilização química. As principais formas e estado de oxidação de S são: sulfato (SO_4^{2-}), estado de oxidação +6; sulfito (SO_3^{-2}) +4; tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{-2}$ ou S-SO_3^{-}) +2 e +5; tetrionato ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) + 2,5; elemental (S^0) 0; dissulfídrico (HS^-) -2 e sulfídrico (S^{2-}) -2, encontrando-se os principais microrganismos envolvidos nessas transformações na **tabela 7.25**. Em seus estados reduzidos (S^{2-} , S^0) S é fonte de energia metabólica para algumas bactérias quimiolitotróficas, que usam HS^- e O_2 para gerar energia e sintetizar compostos orgânicos a partir de CO_2 , num processo semelhante à fotossíntese, como apresentado a seguir:



Em seu estado oxidado (SO_4^{2-}), é acceptor de elétrons para o metabolismo respiratório de bactérias reductoras de sulfato, que constituem um grupo importante de microrganismos do solo em certas condições, como nos alagados (ver capítulos 2 e 4).

7.5.1. Mineralização e imobilização

Em torno de 90% do S presente na camada arável do solo, acha-se na forma orgânica em frações distintas e em estreita relação com as quantidades de C, N e P. A maioria está diretamente ligada ao carbono (C-S), como nos aminoácidos, e outra na forma de éster (C-O-S), sofrendo ambas as frações mineralização, produzindo SO_4^{2-} . O S se une a MOS por ligações com oxigênio ou N, formando ésteres como sulfatos aromáticos (fenol-sulfatos), glicosinolatos, que são açúcares sulfonados que ocorrem em concentrações elevadas nas crucíferas, e com carbono, como nos aminoácidos, proteínas sulfonadas, antibióticos como na penicilina e vitaminas como a biotina e tiamina, importantes fatores do metabolismo celular. Os aminoácidos são a principal forma de ligação C-S, representando em torno de 30% do S de solo, enquanto ésteres sulfatados constituem de 30 a 75% de S orgânico total.

A relação C:S da MOS é alta, cerca de 100:1, e não é tão consistente em suas transformações quanto a relação C:N. As alterações dessa relação resultam de diferenças devido ao material de origem, lixiviação e adições de S. Valores normalmente encontrados para resíduos vegetais vão de C:S 150 a 450. Solos agrícolas têm relação C:N:S em média 90:8:1. A quantidade total de S no solo varia de menos de 100 para os agrícolas a 2.400 mg kg^{-1} nos de florestas temperadas. Nos tropicais cultivados, esses valores são bem mais baixos, de 25 a 400 mg kg^{-1} de solo. Quantidade razoável de S é encontrada na biomassa microbiana, que representa de 1 a 3% do total de S orgânico do solo, constituindo uma reserva que pode ser mineralizada tal como ocorre com os outros nutrientes no

384 Capítulo 7 · Transformações Bioquímicas e Ciclos dos Elementos no Solo

Tabela 7.25. Principais transformações do enxofre no solo e exemplos de respectivos microrganismos e condições exigidas (Modificado de Cook & Kelly em Sylvia et al., 1998).

Grupos	Conversão	Condições	Exemplos de gêneros
- Heterotróficos oxidantes de S como receptor de elétrons.	$\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^-$ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{HS}^-$ $\text{S}^0 \rightarrow \text{HS}^-$ $\text{SO}_3^- \rightarrow \text{HS}^-$	Anaerobiose; disponibilidade de substrato orgânico, não requer luz.	<i>Desulfomonas</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Desulfotomaculum</i> <i>Desulfurmonas</i> <i>Campylobacter</i>
- Autotróficos que usam a redução de S como fonte de energia.	$\text{HS}^- \rightarrow \text{S}^0$ $\text{S}^0 \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$	Interface $\text{H}_2\text{S}-\text{O}_2$ e alta temperatura fazem a biolixiviação.	<i>Thiobacillus</i> <i>Thiomicrospira</i> <i>Achromatium</i> <i>Beggiatoa</i>
- Fototróficos que utilizam a redução de S como doador de elétrons	$\text{HS}^- \rightarrow \text{S}^0$ $\text{S}^0 \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$	Anaerobiose; presença de H_2S e luz.	<i>Chlorobium</i> <i>Chromatium</i> <i>Ectothiorhodospira</i> <i>Thiopedia</i> <i>Rhodopseudomonas</i>
- Heterotróficos usam S-orgânico (energia).	$\text{S-org} \rightarrow \text{HS}^-$ $\text{S-org} \rightarrow \text{S-volátil}$ $\text{Éster SO}_4 \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$	Presença de S-orgânico. Ocorre em solos e sedimentos.	Grande variedade de microrganismos (mineralização).
- Microrganismos que utilizam SO_4^{2-} ou H_2S na biossíntese	$\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{proteína}$ $\text{HS}^- \rightarrow \text{proteína}$ $\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{DMSP}$	Nenhuma específica. Ocorre em solos e sedimentos.	Maioria dos microrganismos.

DMSP = Dimetilsulfôniopropanato.

solo. A biomassa microbiana, além de conter parte de S do solo, é também responsável pelas suas transformações. A atividade microbiana, regula os fluxos entre os diferentes compartimentos ou frações de S no solo que são basicamente: sulfato inorgânico, S-orgânico lábil e S-resistente. Essas formas orgânicas são complexas, mas podem ser recicladas, embora lentamente.

Em solo aerado, o ciclo do enxofre resume-se basicamente na decomposição/mineralização de S-orgânico e na rápida imobilização de SO_4^{2-} inorgânico. A decomposição é feita pelos heterotróficos, havendo várias rotas aeróbias e anaeróbias dos compostos sulfatados, envolvendo desde a oxidação como fonte de energia à quebra de ligações “ésteres” pelas sulfatases, produzindo S- SO_4 ou H_2S como intermediário à dessulfurização pelas dessulfidrases. Estas diferem muito em função da diversi-

dade dos microrganismos envolvidos no processo. Por exemplo, a cisteína em decomposição aeróbia produz SO_4^{2-} como produto final, enquanto na decomposição anaeróbia sofre dessulfurização pela desulfidrase de cisteína ou sulfidrase de serina, produzindo H_2S . No caso da metionina, a degradação por bactérias como o *Clostridium sporogenes* e fungos *Aspergillus*, produz o metil-mercaptano, NH_3 e ácido α -cetoglutárico. Quando S-orgânico está em forma de ésteres, a mineralização é feita pela arilsulfatase, que tem sido detectada em solos de todas as regiões geográficas do mundo, conforme a reação a seguir. A atividade dessa enzima tem alta correlação com o teor de matéria orgânica do solo:



Como grande parte de S-orgânico do solo está presente na forma de éster de sulfato, a atividade hidrolítica dessas enzimas (ex.: sulfidrolase de arilsulfato) é um bom indicador desse processo no solo. As sulfatases estão ligadas à parede celular dos fungos e bactérias, tanto gram-negativas quanto positivas. No solo, a atividade dessas enzimas varia com a profundidade, estação do ano e clima, e geralmente correlacionam-se positivamente com a MOS. Na decomposição, pode haver a formação de orgânicos voláteis como mercaptanos ($\text{CH}_3\text{-S-S-CH}_3$, dimetil dissulfídrico), sulfídricos alquilados, além de outros orgânicos e do próprio H_2S . Esses compostos podem estimular ou inibir fungos patogênicos e também influenciar a nitrificação. A mineralização de S é influenciada por todos os fatores que afetam o crescimento e a atividade microbiana no solo, especialmente:

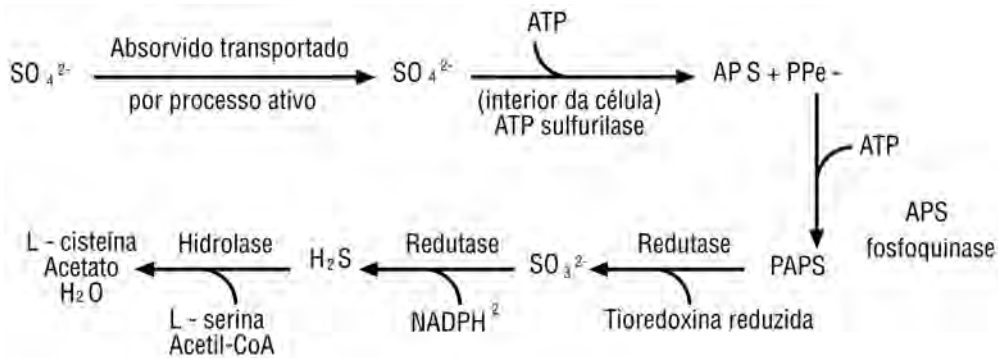
- a) pelo suprimento de energia e nutrientes;
- b) pela relação C:S e abundância de S nos resíduos orgânicos;
- c) pelos fatores ambientais como umidade, pH, temperatura e potencial redox do solo. A mineralização é máxima entre 20 e 40°C, decrescendo muito acima de 40 e abaixo de 10°C. Essa ainda aumenta com a elevação do pH até cerca de 7,5 e 60% da capacidade de retenção de água no solo.

Em solo com boa aeração, S orgânico é mineralizado para SO_4^{2-} , que é a forma absorvida pelas plantas e, ao mesmo tempo, parte é assimilada pelos microrganismos que o incorpora aos tecidos microbianos (imobilização). As taxas relativas, nas quais os dois processos ocorrem, são influenciadas pelos fatores ambientais e pelo suprimento de substratos orgânicos. Nesse caso, também é a relação C:S dos resíduos que regula a quantidade de SO_4^{2-} liberada. Materiais com relação C:S < 200 trarão ganho líquido de SO_4^{2-} para o solo, enquanto aqueles com C:S > 400 podem causar imobilização de S- SO_4^{2-} ainda que temporária. Aqueles com relação C:S entre 200 e 400 não terão efeitos sobre os níveis de SO_4^{2-} no solo, pois ocorre um equilíbrio entre ambos. É interessante o fato de que N e S podem não existir nos mesmos compostos orgânicos ou frações da MOS em decomposição e, por isso, podem ter cinéticas de mineralização distintas; conseqüentemente, podem ser liberados em

tempos diferentes durante a mineralização da matéria orgânica. A mineralização de S, na presença de plantas, é maior do que no solo sem planta, em vista da maior proliferação de microrganismos com certa especificidade para transformar compostos sulfatados. A mineralização de S, apresenta forte relação com acidez do solo e calagem. A presença de Ca^{2+} pode mascarar a liberação de SO_4^{2-} devido à formação de CaSO_4 , que é insolúvel, mas a adição de CaCO_3 aumenta CaSO_4 durante a incubação pela maior mineralização da MOS e liberação de SO_4^{2-} adsorvido.

O teor de S nos microrganismos varia de 1 a 10 mg kg^{-1} de matéria seca e a relação C:S de 60 a 85 para as bactérias e de 180 a 230 para os fungos, indicando ser as bactérias mais exigentes em S que os fungos. Algumas bactérias como *Arthrobacter* e *Pseudomonas* contêm parte de seu S em forma oxidada, enquanto certos fungos armazenam esse elemento, principalmente na forma de ésteres sulfatados. Embora pequena, a fração de S orgânico do solo se encontra na biomassa; é extremamente lábil, tornando-se a principal via direcional do fluxo de S na sua reciclagem via MOS. Quanto mais alta a quantidade de S orgânico na biomassa, maior a disponibilidade desse nutriente no solo; por isso, esse parâmetro é um bom indicador da capacidade do solo em fornecer esse nutriente às plantas.

A incorporação na fração orgânica (assimilação microbiana ou imobilização) do enxofre ocorre da assimilação de SO_4^{2-} , que é a forma mais oxidada, à forma orgânica reduzida através de uma série de reações, até a produção de cisteína. Esse é um processo rápido que segue a dinâmica do crescimento microbiano no solo e ocorre em várias etapas, como apresentadas a seguir:



APS - Fosfosulfato de adenosina, PAPS - fosfodenilsulfato

7.5.2 Transformações inorgânicas

O enxofre sofre inúmeras reações de redução e oxidação no solo (Figura 7.28). Os processos de redução podem ser dissimilatórios de SO_4^{2-} e S^0 para S^{2-} e assimilatórios desses para S-orgânico, como visto no item anterior. A oxidação ocorre com S^{2-} para SO_4^{2-} na presença de O_2 ou NO_3^- e para S^0 que pode ser aeróbia ou anaeróbia. O S^0 pode sofrer a oxidação adicional em aerobiose, formando SO_4^{2-} . A redução de SO_4^{2-} ocorre através da imobilização (assimilatória) e da redução dissimilatória ou respiratória. Esta é indesejável por causar liberação de H_2S , que, além de representar perda de S do ciclo, é poluente atmosférico e agente fitotóxico. Isso ocorre em solos inundados e nos microssítios anaeróbios em solos aerados. Bactérias reduzem os compostos oxidados por processos não assimilatórios, usando o sulfato como aceptor de elétrons, semelhante à desnitrificação. Já no processo metabólico, desenvolvido por poucas espécies de bactérias anaeróbias redutoras de SO_4^{2-} (como *Desulfovibrio* spp., *Desulfomaculum* spp. e *Desulfomonas* spp.), há o envolvimento de diversas enzimas como ATP sulfúrilase, APS fosfoquinase e redutases, como apresentado na equação a seguir. A ação das bactérias redutoras de sulfato está relacionada à poluição, corrosão, degradação de depósitos minerais e tratamentos de efluentes, sendo sua presença freqüentemente indicada por cor escura e cheiro característico de H_2S . A atividade é favorecida em sedimentos aquosos ou solos submersos que contenham quantidades abundantes de materiais orgânicos decomponíveis e ricos em SO_4^{2-} .

A oxidação de compostos do enxofre na forma S^0 , H_2S e FeS_2 ocorre prontamente em solos sob condições altamente redutoras por um grupo de bactérias que utilizam a energia liberada para a fixação de CO_2 e crescimento, como exemplificado na **figura 7.29** para a oxidação da pirita. A aplicação de S^0 no solo tem grande significado agrônômico, pois o SO_4^{2-} é requerido em grande quantidade pelas plantas e, além disso, tem ação direta e indireta de H_2SO_4 sobre o pH do solo. O abaixamento do pH altera a população microbiana; por exemplo, inibe o *Streptomyces* sp., que não cresce em $\text{pH} < 5,0$, favorece a proliferação de fungos com ação antagônica aos patógenos e dissolve minerais do solo, facilitando a mobilização de P, K, Ca, Mn e Fe de minerais primários. A taxa de oxidação de S^0 é espontânea e rápida na maioria dos solos, porém afetada por alguns fatores como tamanho de partículas, localização do elemento e taxa de aplicação. As características das bactérias oxidantes de S foram abordadas no capítulo 2 e os principais grupos são:

- a) bactérias quimiolitotróficas do gênero *Thiobacillus*;
- b) bactérias filamentosas da família Beggiatoaceae (exs.: *Beggiatoa* e *Thiothrix*);
- c) bactérias fotossintéticas (exs.: *Thiospirillum* e *Thiocystis*);
- d) microrganismos heterotróficos: bactérias (*Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*), fungos (*Alternaria*, *Fusarium*, *Trichoderma* e *Absidia*) e actinomicetos. Os organismos do grupo b e c são geralmente limitados a ambientes aquáticos onde produzem H_2S .

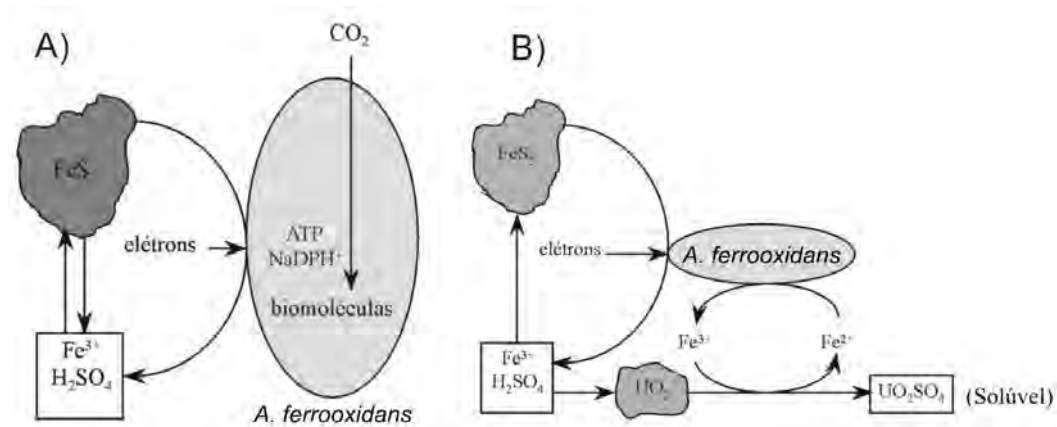


Figura 7.29. A) Esquema simplificado da oxidação da pirita (FeS_2) por *Acidithiobacillus* (syn. *Thiobacillus*) *ferrooxidans* para produção de energia (ATP) e poder redutor (NADPH^+) para a fixação de CO_2 atmosférico; B) da uranina (UO_2) pelos produtos da oxidação da pirita (FeS_2) por *T. ferrooxidans*. O íon ferroso (Fe^{2+}) é transformado pela bactéria. Notar que o urânio solúvel é produzido na forma de UO_2SO_4 . (Garcia-Júnior, 1997.)

7.6. Metais

7.6.1. Fontes, deposição e transformações no solo

Os metais no solo originam-se da intemperização dos materiais de origem e de fontes antropogênicas como pesticidas e fertilizantes, rejeitos orgânicos e industriais, mineração e queima de combustíveis, irrigação e deposição atmosférica. Tem-se verificado, ao longo do desenvolvimento tecnológico mundial, uma contribuição crescente das fontes antrópicas de metais para o solo, o que resulta na poluição de extensas áreas e no avanço do impacto negativo desses sobre o meio ambiente. Os principais metais poluidores e respectivas fontes mais importantes encontram-se na **tabela 7.26**. A combustão do carvão mineral é a atividade que contribui com o maior número de metais poluentes para o solo, seguida pela deposição de lodo de esgoto e resíduos da indústria petrolífera e siderúrgica. A elevação na concentração de metais no solo interfere diretamente no ciclo desses elementos na natureza e também pode influenciar, de modo negativo, outros processos, tendo interferência também negativa no ecossistema.

Os metais encontram-se em formas diversas no solo, como: solúveis em água, retidos nos sítios de troca, adsorvidos ou complexados aos colóides orgânicos e inorgânicos, insolúveis precipitados ou ocluídos pelos óxidos de Fe e Mn, como minerais primários, e nos compostos orgânicos e inorgânicos adicionados pelos resíduos. Como ilustrado na **figura 7.30**, esses elementos, quando presentes em resíduos orgânicos vegetais, animais e outros, como lodo de esgoto, são liberados mediante

Tabela 7.26. Principais fontes antrópicas de metais tóxicos e elementos relacionados.

Metal	Atividade			Metalúrgica		Agri- cultura	Manufa- turados	Rejeitos sólidos	Lodo de esgoto
	Carvão	Petróleo	Energia	Não ferrosa	Ferrosa				
As	X*			X		X	X		X*
Cd	X*			X		X	X		X*
Cr	X*		X	X	X	X*	X*	X	X
Cu	X	X		X*			X	X*	X*
Hg	X*		X			X*		X*	
Mn	X*		X	X	X	X*	X	X	X
Ni	X*	X	X	X		X			X*
Pb		X*		X			X	X*	X
Se	X*								
V	X	X*				X			
Zn	X		X	X	X	X*	X	X	X*

* Fonte com maior contribuição relativa para a concentração de metais no solo

biodegradação, produzindo quelatos orgânicos e metais livres, os quais vão para a biomassa, entram nas diversas formas do estoque de metais do solo ou são absorvidos pelas plantas ou, ainda, lixiviados. Assim como ocorre com outros elementos, os metais passam por uma biociclagem no solo através da absorção pelas plantas, biomassa microbiana e transformação em formas livres (iônica) ou de quelato que se equilibram com as demais formas encontradas no solo. Os elementos metálicos, portanto, além de sofrer inúmeras transformações, estão também sujeitos à mineralização e à imobilização na biomassa microbiana. Essas transformações e outras maneiras de interação microorganismos-metais envolvem adsorção e dessorção, oxidação autotrófica e enzimática, absorção e bioacumulação na biomassa (**Figura 7.31**) e transformações indiretas resultantes da atividade dos heterotróficos. Apesar de tais mecanismos serem bem delineados, pouco se conhece sobre a capacidade da biomassa microbiana do solo em acumular metais, especialmente daqueles sem função fisiológica conhecida, como Cd e Hg.

Os metais no solo podem sofrer lixiviação ou ser absorvidos pela microbiota e pela vegetação. Após a morte das plantas, os metais acumulam-se na serrapilheira, sendo liberados durante a mineralização, fechando, assim, o ciclo. Na decomposição dos restos orgânicos, grande quantidade desses elementos é liberada em forma iônica pela simples decomposição da matriz orgânica. Isso ocorre porque a maioria desses metais se encontra em formas mono ou divalentes nos resíduos e não estruturalmente ligada aos compostos orgânicos. Também estes não sofrem reações complexas como as que ocorrem para N, P e S. Para K, por exemplo, apenas 1/3 da quantidade encontrada nos restos vegetais requer ataque microbiano para ser liberado, sendo os restantes 2/3 prontamente solúveis em água, requerendo apenas transformações físicas na matriz do resíduo para serem liberados para o solo. Mesmo assim, sua disponibilidade pode ser reduzida quando grande quantidade de

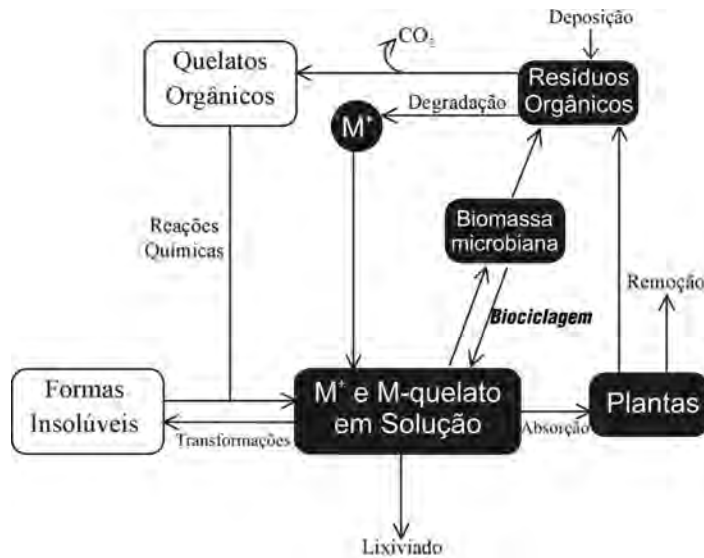


Figura 7.30. Principais formas, transformações e fluxos dos metais no sistema solo-planta. (Modificado de Stevenson, 1986.)

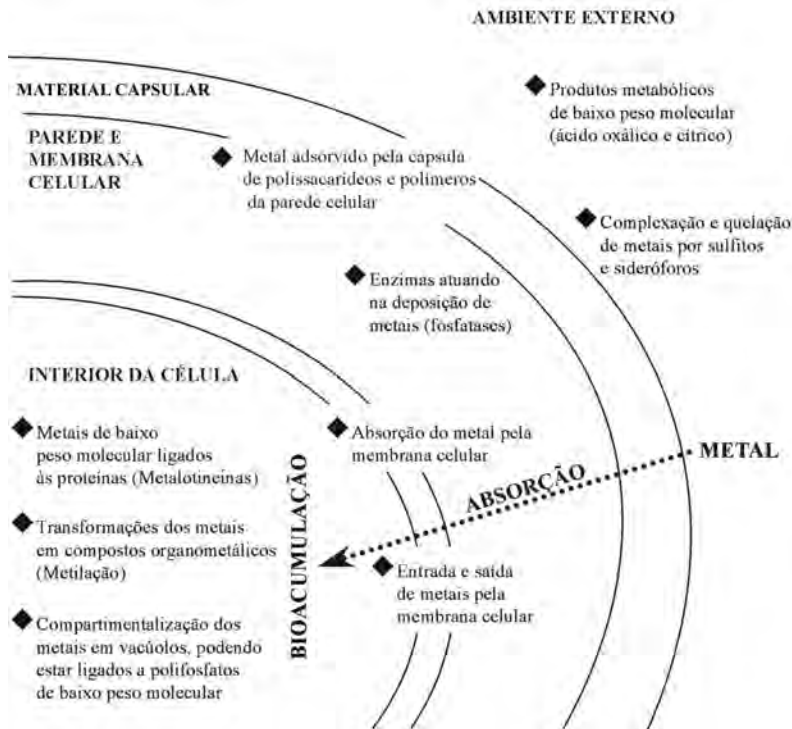


Figura 7.31. Esquema simplificado da interação célula-metal que contribui para acumulação e destoxificação dos metais para os microrganismos. (Modificado de Gomes et al., 1998.)

C é adicionada ao solo. Considerando-se que existem de 10 a 20 mg kg⁻¹ de K nas células microbianas, estima-se que entre 2,4 e 4,8 kg de K são assimilados pela microbiota heterotrófica na decomposição de cada tonelada de material orgânico com 40% de C. Como esses materiais têm em torno de 5 mg kg⁻¹ e considerando 30% de aproveitamento do resíduo e 50% de C na biomassa, há no resíduo em torno de 2,0 kg de K, indicando a mínima chance de ocorrer sua imobilização durante a decomposição. Situações semelhantes sucedem para os demais elementos metálicos presentes em materiais orgânicos ou transformados pela biomassa microbiana no solo, indicando que a imobilização microbiana dos metais é muito pequena e pouco relevante nos fluxos desses elementos.

Vários metais estão também sujeitos a transformações inorgânicas que resultam de diversos mecanismos (**Figura 7.32**). Estudos com esse enfoque tiveram início no final do século XIX, quando o pesquisador russo Serguei Winogradsky evidenciou o modo quimiolitotrófico da vida microbiana. Por esse metabolismo, microrganismos fixam CO₂ através da energia de oxidação de compostos inorgânicos (Figura 7.29). A atividade quimiolitotrófica, além de ter grande importância geoquímica, tem aplicação na lixiviação ou na solubilização de minerais através do processo conhecido como *biolixiviação* ou *biometalurgia*, como é exemplificado na figura 7.29 para a oxidação/solubilização da uranita por *T. ferrooxidans*. As transformações dos metais podem ser divididas em dois grupos principais: a) *oxidação*, quando eles atuam como fonte de energia para o crescimento litotrófico, e b) *redução*, quando atuam como aceptor de elétrons, quando há uma fonte de energia disponível e o ambiente não tem um substrato que possa ser prontamente reduzido. Nesse caso, há o envolvimento de conversões de metais para compostos orgânicos e reações reversas. A microbiota atua ativamente nas transformações de vários metais, conforme alguns exemplos na **tabela 7.27**, interferindo nos ciclos dos elementos no solo. Isto controla seu fluxo no ecossistema, podendo causar deficiência ou fitotoxicidade de micronutrientes e problemas ambientais.



Figura 7.32. Mecanismos de interações metal-microorganismos e transformações inorgânicas. (Modificado de Robert & Berthelin, 1986.)

Minerais insolúveis contendo K, Ca e Mg podem ser solubilizados pelos microrganismos, o que constitui importante mecanismo de pedogênese (intemperismo de minerais primários) e de controle da disponibilidade desses elementos no solo. A solubilização biológica de rochas e minerais é um processo comum na crosta terrestre e no solo e ocorre através de mecanismos diversos que constituem o intemperismo de rochas e minerais, sendo os mais importantes os seguintes:

- a) reações enzimáticas do tipo oxirredução. Ex.: transformações de $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$, que é mais solúvel;
- b) produção de substâncias quelantes. A remoção de Fe por quelação é o primeiro passo da solubilização de minerais contendo esse elemento;
- c) produção de ácidos orgânicos, como o cítrico, oxálico, α -cetoglutárico, e inorgânicos, como sulfúrico, carbônico e nítrico, que agem como agentes de dissolução;
- d) abaixamento da concentração do elemento na solução a níveis abaixo dos quais o mineral se torna instável e se rompe. A elevada superfície específica e os baixos valores de K_m dos microrganismos resultam em alta capacidade de absorção dos elementos da solução, causando a instabilidade química nos minerais.

A produção de ácidos orgânicos é o mecanismo mais comum de ataque biológico a minerais da crosta terrestre. Embora a produção desses compostos pelos microrganismos (fermentação) seja explorada industrialmente desde o início do século passado (1920), sua potencialidade para solubilizar rochas e minerais de modo controlado não tem merecido muita atenção. Um exemplo da capacidade de fungos e bactérias em solubilizar silicatos diversos encontra-se na **tabela 7.28**. Verifica-se que a maioria dos isolados estudados solubiliza silicato de Ca, o mesmo não ocorrendo para o silicato de Mg. Os fungos, incluindo os micorrízicos, têm também alta capacidade de solubilizar silicato de Zn. Em um estudo feito com um silicato potássico da região de Poços de Caldas (Sienito nefelínico com 15% de K total em forma não biodisponível), verificou-se que o fungo *Aspergillus terreus* foi capaz de utilizar parte do K, segundo Siqueira & Castro (1982). Após 7 dias de incubação, 20% de K se encontrava no micélio fúngico e, 2%, em solução. De acordo com esses autores, a extrapolação do processo para condições de campo, onde se aplicaram 3 Mg ha⁻¹ de sienito indica que dos 370 kg K total contidos na rocha, em torno de 80 kg seriam solubilizados pelos heterotróficos. Isso seria suficiente para atender à demanda da maioria dos cultivos vegetais por meio de um processo biológico de solubilização *in situ*. Entretanto, a presença de outros microrganismos heterotróficos competidores, a baixa disponibilidade de substrato orgânico no solo e o reduzido contato fungo-mineral, limitam a viabilidade do processo em condições naturais de solo. A aplicação de materiais orgânicos como fonte de C para síntese de agentes solubilizadores pode reduzir parte das limitações, mas maneiras práticas para operacionalizar isso ainda não foram desenvolvidas.

Além de reter metais, a biomassa microbiana pode promover a precipitação extracelular como a formação de sulfetos metálicos (S^{2-}) e compostos fosfatados (PO_4^{3-}) de metais, conforme reação genérica a seguir:

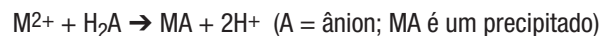


Tabela 7.27. Exemplos de transformações de elementos metálicos mediadas por microrganismos (Sylvia et al., 1998; Paul & Clark, 1996).

Elemento	Mecanismo ou reação	Microrganismos
K, Ca, Mg	Mineralização (liberação e imobilização) Solubilização por mecanismos diversos	Maioria dos heterotróficos. Vários microrganismos.
Fe	Oxidação - energia para litotróficos Redução - acceptor de elétrons	<i>T. ferroxidans</i> . <i>Desulfovibrio</i> .
Mn	Oxidação Mn^{2+} por bactérias no solo Redução Mn^{4+}	<i>Leptothrix</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Bacillus</i> e <i>Pseudomonas</i> sp.
Hg	Redução Hg^{2+} para Hg^0 pela Hg-redutase Metilação pela metilcobalamina Desalquilação $R-Hg \rightarrow R + Hg$	Vários microrganismos. Fungos e bactérias. <i>Clostridium</i> e <i>Pseudomonas</i> .
Cu e Zn	Mineralização (liberação e imobilização) Solubilização e precipitação	Toda biota. Alguns fungos e bactérias.
Ar e Se	Oxi-redução e metilação ($Se^- \rightarrow Se^0$)	<i>Bacillus</i> , <i>Thiobacillus</i> e <i>Desulfovibrio</i>
Cr	Redução $Cr^{6+} \rightarrow Cr^{3+}$ (menos tóxicos)	<i>Aeromonas</i> e <i>Bacillus</i>
U	Redução $U^{6+} \rightarrow U^{4+}$ (insolúvel)	<i>Geobacter metallireductans</i> .
Mo	Redução $Mo^{6+} \rightarrow Mo^{5+}$	<i>Pseudomonas</i> sp.
V	Redução $V^{5+} \rightarrow V^{4+,3+}$	<i>Pseudomonas vanadium reductans</i> .
Sb	Oxidação $Sb^{3+} \rightarrow Sb^{5+}$	<i>Sulfolobus senarmonti</i> .

Tabela 7.28. Microrganismos que dissolvem silicatos isolados de rochas em intemperização (Webley et al., 1963).

Grupo	Total de isolados	Isolados capazes de dissolver			
		Silicatos Ca	Wollastonita	Silicato Mg	Silicato Zn
----- % do total de isolados -----					
Bactérias	265	83	57	65	-
Actinomicetos	39	87	38	46	-
Fungos	149	94	-	76	96

Os microrganismos podem transformar certos metais por meio de mecanismos bioquímicos diferenciados, como metilação e desmetilação. Por exemplo, a metilação de Hg é um mecanismo de sua destoxificação. A forma metilada, porém, é solúvel em lipídeo e cruza facilmente a membrana, sendo prontamente absorvida pela célula. Além disso, Hg-metil é volátil e uma forma muito tóxica desse metal. Vários fungos e bactérias fazem metilação de metais como As, Hg e Se via co-enzima metilcobalamina. Alguns microrganismos fazem também a redução de Hg^{2+} para se proteger contra a toxicidade e não para obter energia. Nesse caso age a Hg-redutase. A redução microbiana de metais ocorre também para outros elementos como Cr, envolvendo vários microrganismos e mecanismos. Por exemplo, a redução de Cr pode ser aeróbia em *Achromobacter eurydice*, *Pseudomonas fluorescens* e *Streptomyces* sp., que usam a glicose como doadora de elétrons. Já *Agrobacterium radiobacter* também reduz Cr, tanto em aerobiose quanto em anaerobiose usando doadores endógenos de elétrons para a redução, enquanto outras, como *Desulfovibrio vulgaris*, fazem a redução aeróbia tendo H_2 como doador de elétrons. *Enterobacter cloacae* faz redução anaeróbia de metais usando aminoácidos como doadores de elétrons.

Ao mesmo tempo que os microrganismos transformam esses elementos, sua densidade, atividade e diversidade são influenciadas por concentrações elevadas de certos metais no solo. Os microrganismos são influenciados de modo diferenciado pelos metais, assim como os processos por eles mediados, sendo muito difícil estabelecer concentrações críticas dos metais para inibir as funções ecológicas principais e as transformações dos elementos no solo. Além disso, parte da dificuldade em definir concentrações críticas de metais que inibem os microrganismos surgem das limitações em extrapolar estudos toxicológicos no laboratório (Giller et al., 1998). Estes estudos são fáceis de serem conduzidos, mas difíceis de terem seus resultados extrapoláveis aos efeitos tóxicos no campo. Mesmo assim, estudos comparativos fornecem resultados que dão alguma indicação de concentrações críticas, como exemplos fornecidos na **tabela 7.29**. Verifica-se que a concentração de metal no solo acima da qual ocorre inibição do processo, depende exclusivamente do metal e do processo em consideração, havendo grande variação. Cd e Hg são os que exibem maior toxicidade para respiração e nitrificação, sendo Hg mais tóxico para essas funções, enquanto Cr e Pb são de baixa toxicidade. Do mesmo modo, a ação inibitória dos metais sobre as enzimas varia em função do pH e do metal. Alguns exemplos são resumidos a seguir:

- a) inibição da fosfatase: pode atingir até 60%, sendo os efeitos dos metais decrescentes na seguinte ordem: $\text{Mo}^{4+} > \text{Ag}^{1+} > \text{Hg}^{2+} > \text{W}^{4+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} = \text{Cr}^{3+}$;
- b) arilsulfatase: pode ser inibida até 98%, sendo os efeitos dos metais decrescentes na seguinte ordem: $\text{Ag}^{1+} > \text{Hg}^{2+} > \text{V}^{4+} > \text{Mo}^{4+} > \text{Cr}^{3+} > \text{Cd}^{2+} = \text{Sn}^{2+} > \text{Zn}^{4+}$;
- c) urease: pode ser inibida até 93%, sendo os efeitos dos metais decrescentes na seguinte ordem: $\text{Ag}^{1+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cr}^{3+} = \text{Sn}^{2+} > \text{V}^{4+}$.

De modo geral, observa-se certa especificidade dos metais quanto a seus efeitos nos processos do solo, que dificulta generalização sobre o impacto desses elementos no ambiente.

Tabela 7.29. Concentrações de metais acima das quais pode ocorrer inibição de processos bioquímicos do solo (Modificado de Doelman, 1985).

Processo	Metais pesados						
	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
	-----mg kg ⁻¹ de solo-----						
Respiração	9	100	100	1	10	100	10
Amonificação	200	200	100	10	100	500	100
Nitrificação	70	200	100	10	100	500	80

7.6.2. Bioacumulação e Biossorção

Os microrganismos e os metais disponíveis interagem de modo muito intenso por dois processos distintos: a bioacumulação e a biossorção. A acumulação celular resulta da absorção metabólica e da translocação ativa para dentro da célula, resultando na bioacumulação (Figura 7.31), geralmente para garantir as funções biológicas, embora nem sempre isso aconteça para atender a uma necessidade nutricional, enquanto a sorção no envelope celular se dá por meio de processos não metabólicos, resultando na biossorção. A absorção acontece para todos os metais, inclusive de elementos radioativos (radionuclídeos). Os produtos metabólicos extracelulares, a adsorção superficial, a absorção e a bioacumulação são mecanismos de imobilização de metais importantes na biorremediação, mas pouco se conhece sobre a dinâmica desses processos na microbiota de solos com atividade normal (não contaminados).

A bioacumulação celular dos metais ocorre por diferentes vias dos conhecidos sistemas de transporte, que são regulados metabolicamente por proteínas como as *metalotioneínas*. Estas são peptídeos de baixo peso molecular, caracterizados por alto conteúdo de cisteína, ausência de aminoácidos aromáticos e histidina. Esses compostos são capazes de se ligar a altas concentrações de metais em grupamentos de tiolato de metal. Vários tipos de metalotioneínas são produzidos pelos fungos e estão envolvidos na retenção extracelular de metais, evitando que atinjam o interior das células onde causariam danos ao organismo, por isto, representa um importante mecanismo de tolerância aos metais. Os sistemas específicos de absorção e transporte de metais dependem muito do grau de tolerância da célula ao metal. Esse é um aspecto de enorme interesse na relação microrganismos-metais, considerando a tendência de aumento na concentração de metais no solo, podendo atingir níveis tóxicos para os microrganismos ou para os processos por eles mediados.

Radionuclídeos são geralmente elementos fabricados pelo homem a partir de fissão nuclear ou produtos ativados como o ⁸⁹Sr, ⁹⁵Zr e ¹³⁷Cs, para fins industriais, mas que representam importante fonte de contaminação pela emissão de radiação química. No solo, esses elementos podem ser absorvidos pelos fungos que alteram seu fluxo e sua transferência na cadeia trófica, ao mesmo tempo em que esses organismos são indicadores da contaminação radioativa do ambiente. A contaminação radioativa mais comum ocorre com o ¹³⁷Cs que se acumula em grande quantidade em basidiocarpos

e outras partes dos fungos. Estudos ecológicos na área afetada pelo acidente da usina atômica de Chernobyl, onde a concentração de ^{137}Cs aumentou após o acidente, revelaram que diferentes espécies fúngicas têm capacidades variadas de acumular o ^{137}Cs (**Tabela 7.30**). O acúmulo desses radionuclídeos é resultante da biossorção e ocorre tanto pelas células vivas quanto pelas mortas. Estudos em solos contaminados têm demonstrado também que raízes de plantas colonizadas por alguns desses fungos absorvem menor quantidade de radionuclídeos que aquelas não colonizadas, indicando que a simbiose micorrízica resulta em certa proteção às plantas.

Materiais capsulares das células microbianas contêm metabólitos, como moléculas de baixo peso molecular e agentes complexantes ou quelantes, como, por exemplo, os *sideróforos* e as *melaninas* e *glomalina*, que são eficazes na retenção e complexação dos metais. A capacidade de biossorção dos microrganismos varia muito em função do biopolímero que produz e do metal em consideração conforme alguns exemplos dados na **tabela 7.31**, que ilustra a afinidade relativa dos metais a diferentes polímeros de origem microbiana. A capacidade de absorção e acúmulo de metais nos tecidos microbianos é também diferenciada para os metais e organismos envolvidos (**Tabela 7.32**). Para o *Bacillus subtilis*, que é gram-positivo, o agente primário de ligação com os metais é o grupo COO^- do ácido glutâmico do peptideoglicano, por isso é capaz de absorver muito Cu e Pb. Em outras bactérias e fungos, essa capacidade é determinada por componentes, e pela extensão ou volume do material capsular. O efeito do metal sobre o microrganismo, se é nutriente ou não, assim como sua toxicidade, também influenciam a absorção e acumulação do metal, pois a quantidade acumulada tem estreita relação com o crescimento microbiano.

A absorção de metais pelos microrganismos é atualmente assunto de grande interesse em tecnologia ambiental como agentes de biossorção e purificação de efluentes líquidos contaminados. Por exemplo, células liofilizadas de *Streptomyces longwoodensis* acumulam 450 mg de urânio g^{-1} de matéria seca apenas em 30 a 40 segundos de exposição ao metal. Esse mecanismo de retenção de metais deve ocorrer também no solo, onde a biomassa certamente atua como importante transformador, regulador e do estoque e dinâmica de metais. Entretanto, a magnitude e os benefícios reais desse processo em solos contaminados ainda são desconhecidos, pois a população microbiana do solo ainda não foi avaliada com tal enfoque.

Tabela 7.30. Absorção de ^{137}Cs por basidiomicetos (Haselwandter & Berreck, 1994).

Espécie fúngica	Bequerel, ^{137}Cs kg^{-1} matéria seca	Local
<i>Cortinarius armillatus</i>	25160-123761	Áustria/Finlândia
<i>Russula emotica</i>	21275	Áustria
<i>Swillus variegatus</i>	9213	Áustria
<i>Paxillus involutus</i>	2141	Áustria
<i>Gantherellus lutescens</i>	1124-35000	Itália
<i>Laccaria amethystina</i>	12000-117000	Eslovênia
<i>Boletus edulis</i>	6489-12400	Ucrânia
<i>Suillus luteus</i>	83485-947400	Ucrânia

Tabela 7.31. Capacidade de adsorção (biossorção) relativa de metais por polímeros microbianos (Modificado de Gomes et al., 1998).

Biomassa	Principal polímero ligante	Afinidade relativa
Lodo ativado	Polímeros extracelulares produzidos por bactérias floculantes, polissacarídeos, ácidos húmicos e proteínas.	Cr>Cd>Ag>Pb>Zn>Cu>Ni, Co, Mn, Mo
<i>Bacillus megaterium</i>	Peptídeo-glicano e ácidos teicóicos.	La>Cd>Sr>Ca>Mg>K>Na
<i>Bacillus subtilis</i>	Peptídeo-glicano e ácidos teicóicos.	Zn>Mg>Sr>Na>Ca>Mn>Ni
<i>Aspergillus niger</i>	Quitina- β -glucano.	La \geq Ag>Cu>Cd>Mn>Zn>Co
<i>Penicillium</i> sp.	Quitina-quitosana.	Fe>Cu, Zn, Ni> Cd, Pb> UO ₂
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Quitina-quitosana.	Pb>Cd>Cu>Zn>As
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Quitina-quitosana.	UO ₂ >Pb>Cd>Zn>Cu
<i>Chlorella vulgaris</i>	Não completamente conhecido (polissacarídeos, ácido urônico e proteínas).	Al, Ag \geq Cu>Cd \geq Ni \geq Pb> Zn, Co \geq Cr

Tabela 7.32. Acúmulo de metais por alguns microrganismos (Gomes et al., 1998).

Microrganismos	Metais absorvidos (mg g ⁻¹ biomassa)					
	Cu	Cd	Au	Ag	Pb	Zn
<i>Aspergillus niger</i>	1,7	3,7	176	22	-	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	122	56	-	-	122	6
<i>Rhizopus arrhizus</i>	16	30	164	54	91	20
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,9	71	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	146	-	79	-	189	-

7.6.3. Fluxos e ciclos

A elevação dos teores de metais pesados no solo é uma tendência crescente e muito preocupante pelos efeitos adversos que podem causar ao solo, ao ambiente e ao próprio homem. Tais elementos exercem grande efeito adverso sobre os microrganismos e processos microbianos no solo, comprometendo a funcionalidade do ecossistema como sua própria ciclagem, para o caso de Fe na **figura 7.33**. O metal oscila entre forma oxidada e reduzida, dependendo das condições ambientais, representando um ciclo complexo e com grande intervenção de processos microbiológicos. Essas transformações determinam as várias formas e concentrações do metal, assim como seus fluxos e estoque nos componentes dos sistemas (Lovley, 1995). Tal como ocorre com Fe, por não sofrer degradação, os metais tendem a acumular no solo ou na biota, onde podem transformar continuamente. Mesmo os elementos que não sofrem oxirredução, como o Cd, têm suas transformações e dinâmica própria como representado na **figura 7.34**. O metal alcança o solo por várias formas, onde constitui dois estoques principais: disponível e não disponível. Quando disponível, é absorvido pelas plantas, podendo entrar na cadeia trófica ou sendo devolvido ao solo onde será liberado novamente após a decomposição do resíduo orgânico, podendo acumular-se em forma disponível ou não. Se não for absorvido, poderá ser lixiviado e, assim, contaminar o lençol freático. Fica evidente, portanto, que as plantas e os microrganismos exercem grande influência na dinâmica dos metais no ambiente.



Figura 7.33. Ciclo do ferro. Transformações incluindo oxidação e redução de Fe-mineral, precipitação de Fe^{2+} e Fe^{3+} mineral, dissolução de Fe-mineral para formas disponíveis às plantas e mineralização de Fe-orgânico (Mullen *apud* Sylvia et al., 1998).

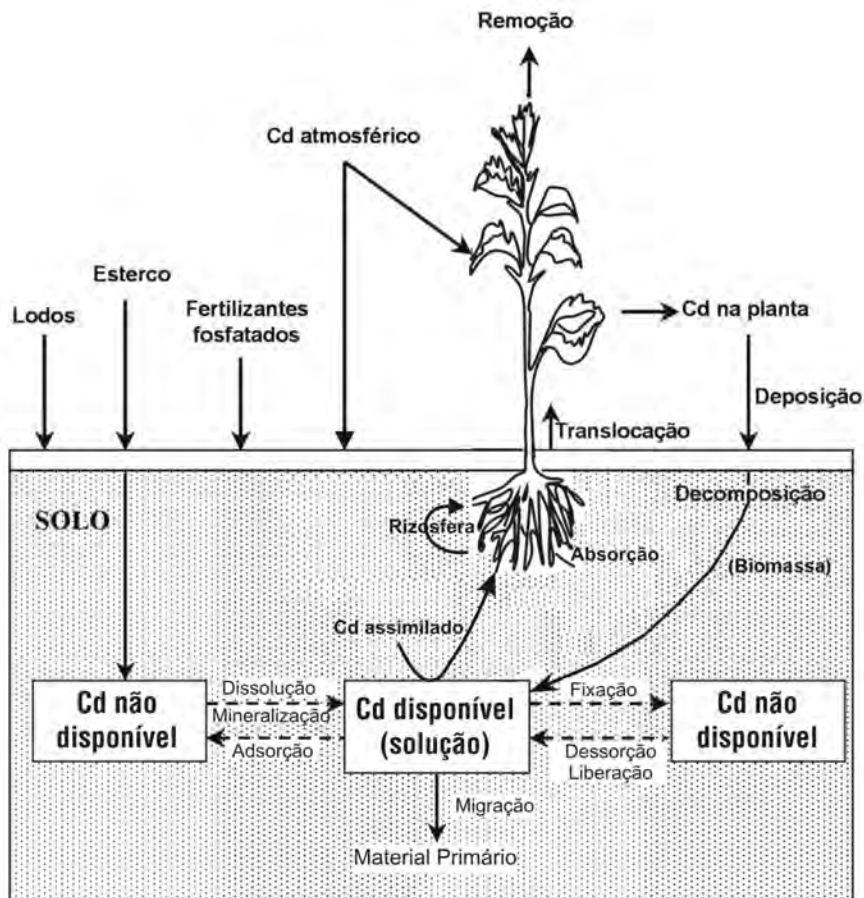
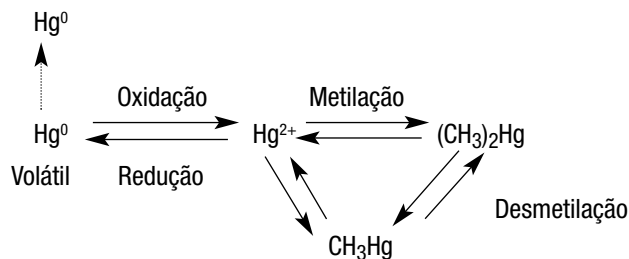


Figura 7.34. Transformações, fluxos e ciclo do cádmio. (Modificado de Johnston, s/d.)

O mercúrio é um dos mais perigosos poluentes que se conhecem atingindo o solo como Hg^{2+} e CH_3Hg em quantidades estimadas até em 70 Mg ha^{-1} , originadas principalmente da queima de carvão mineral. Hg^{2+} é muito tóxico, enquanto $HgCH_3$ é solúvel em lipídeos, o que o torna prontamente absorvível pelas células. No solo, Hg^{2+} é rapidamente adsorvido e sofre várias transformações bióticas e abióticas, como resumidas esquematicamente a seguir:



Diversos microrganismos são capazes de reduzir Hg^{2+} para se autoprotegerem da sua ação tóxica e não para obtenção de energia, como acontece em outras reduções metálicas. O produto dessa redução (Hg^0) é volátil e menos tóxico, representando, assim, um mecanismo de destoxificação do meio para garantir o crescimento microbiano. Em bactérias, a redução se relaciona com *operons* de resistência denominados *mer* que codifica a enzima redutase do mercúrio. A célula microbiana absorve Hg^{2+} por proteínas MER e, no citoplasma, converte-o em Hg^0 que se volatiliza. No solo, existem também bactérias capazes de fazer a oxidação do Hg^0 não reativo para forma biologicamente ativa (Hg^{2+}) como ilustrado na **figura 7.35**. Enquanto *Bacillus* sp. e *Streptomyces* sp. tiveram elevada capacidade de oxidação do Hg^0 , a *Escherichia coli* estudada mostrou-se pouco efetiva para essa transformação. Segundo os autores, essa capacidade se relaciona à atividade de catalase e peroxidase das bactérias. Como apresentado no esquema anterior, Hg^{2+} sofre também reações de metilação que consistem na ligação de Hg a C do radical metil. As formas metiladas são mais voláteis, solúveis e também muito tóxicas. Essa reação é obtida via coenzima metilcobalamina, que transfere o grupo CH_3^- para o Hg. Formas metiladas podem também sofrer desmetilação, retornando à forma original. A *biometilação* de metais e metalóides tóxicos é de grande importância e documentada para outros elementos na natureza. Entretanto, o efeito dessa transformação não é idêntico para todos os metais. Por exemplo, formas de Cd metiladas são insolúveis em água, enquanto As metilado torna-se solúvel e muito tóxico. Em geral, os fungos promovem a metilação de As, Hg e Se e as bactérias, todos esses, além de Pb.

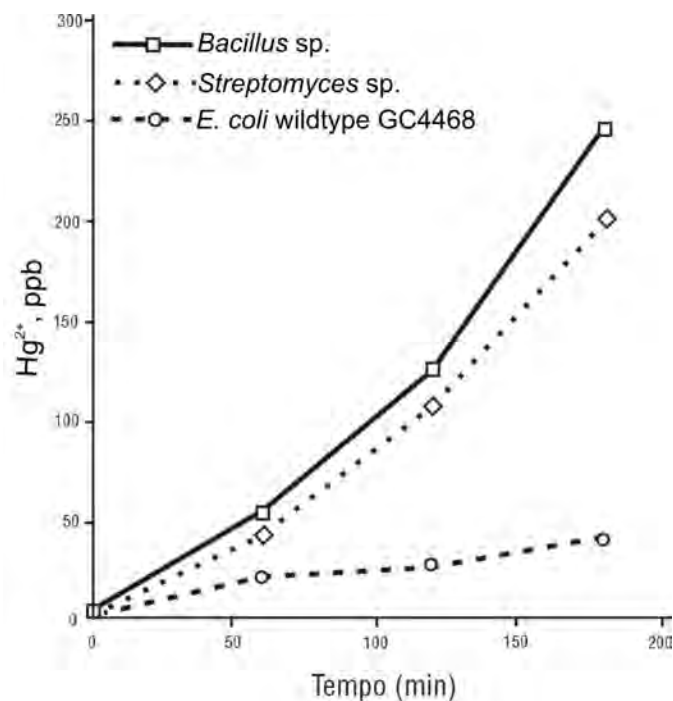
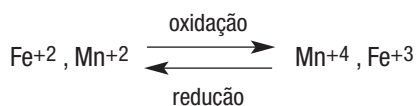


Figura 7.35. Velocidade de oxidação de Hg^0 por diferentes bactérias do solo. (Smith et al., 1998.)

A tendência atual para disposição ou aplicação de resíduos no solo resultará na adição concomitante de grande quantidade de vários metais. Parte desse aspecto foi comentado no item 7.2 e está relacionado à reciclagem via matrizes orgânicas como os bio sólidos. Embora estes, em geral, tenham concentrações elevadas de metais, podem ser aplicados desde que se observe a carga máxima acumulativa e as concentrações permitidas de metais no solo (Tabela 7.14). No entanto, quando se consideram as transformações bióticas dos metais, dois aspectos como nutrientes para os vegetais e elementos poluidores merecem comentários adicionais.

7.6.4. Disponibilidade de nutrientes poluidores

A assimilação pela microbiota não tem conseqüências significativas para as plantas, mas as transformações biológicas sofridas por vários elementos metálicos nutrientes são fatores críticos da sua disponibilidade, especialmente em solos sujeitos ao excesso de umidade. Como já abordado, vários nutrientes como Fe e Mn têm sua disponibilidade muito influenciada pela atividade de microrganismos que atuam nos processos de oxirredução, controlando sua biodisponibilidade. Bactérias dos gêneros *Aerobacter*, *Flavobacterium* e *Thiobacillus* são exemplos de mediadores biológicos dessas transformações no solo e na rizosfera, conforme equação abaixo:



Como ilustrado para seu ciclo, Fe envolve transformações de oxirredução dos minerais, precipitação e dissolução e ainda sua mineralização ligado à matéria orgânica (Figura 7.32). Em condições ácidas, *T. ferrooxidans* oxida Fe^{2+} para Fe^{3+} , que predomina em solos aerados. Bactérias pertencentes a outros gêneros, como *Leptospirillum*, *Sulfolobus* e *Acidianus*, também oxidam Fe. Isso ocorre conforme reação a seguir:



A oxidação de Mn é também microbiológica em solo com $\text{pH} > 5,0$. A velocidade da reação aumenta até $\text{pH} 8,0$, produzindo MnO_2 como composto principal, uma forma insolúvel. As bactérias que fazem essa transformação são quimioautotróficas, mas algumas, mixotróficas, obtêm energia da oxidação de Mn e C de formas orgânicas, conforme equação abaixo:



Outras bactérias oxidam Mn^{2+} para $\text{MnO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$, via catalase. Essa reação não fornece energia para a bactéria, mas serve para remover H_2O_2 , que é tóxica:



Outras espécies de bactérias e fungos fazem também a redução dissimilatória de Fe e Mn. Isso é geralmente acoplado com a oxidação de produtos da fermentação de resíduos orgânicos por *Geobacter metallifedurens* que oxida o acetato tendo Fe^{3+} como receptor de elétrons. A reação a seguir representa importante oxidação de certos contaminantes orgânicos aromáticos, que são convertidos em CO_2 na presença de Fe^{3+} , liberando Fe^{2+} , que é mais disponível às plantas:



A redução dissimilatória de metais é importante para as transformações desses elementos nas seguintes situações:

- a) Fe^{3+} como receptor de elétrons na decomposição de compostos orgânicos e na gleização do solo, o que indica ambiente de redução e problemas de drenagem no solo e baixo Fe disponível;
- b) redução de Fe^{3+} em minerais fosfáticos leva à liberação de fosfato, aumentando a disponibilidade de P no solo;
- c) redução de Fe^{3+} provoca corrosão em equipamentos metálicos;
- d) redução de Mn^{4+} e Fe^{3+} , liberando Mn^{2+} e Fe^{2+} para a solução do solo causando toxicidade às plantas. Esses metais, nesse estado de oxidação, são muito solúveis e móveis, sendo facilmente perdidos do solo.

A disponibilidade de outros metais, como Zn, também é afetada pelos microrganismos através de seus efeitos indiretos no pH, produção de ácidos orgânicos e mineralização da matéria orgânica. Vários microrganismos isolados do solo são capazes de precipitar ou solubilizar compostos de Zn e outros micronutrientes em condições controladas. Por exemplo, *Thiobacillus* sp. é capaz de oxidar ZnS, aumentando a solubilidade de Zn.

7.7. Considerações finais

As transformações bioquímicas dos elementos no solo são muito complexas e constituem importante parte do ciclo deles na natureza. Os microrganismos do solo, através de seus efeitos diretos ou indiretos, controlam essas transformações e, assim, influenciam o estoque dos elementos nos diferentes componentes, a ciclagem e sua disponibilidade no solo, por meio de mecanismos diversos.

Tentativas de explorar os processos biológicos relacionados às transformações dos elementos, para manter ou melhorar a fertilidade do solo ou controlar problemas ambientais, não têm tido o mesmo sucesso do emprego de alguns desses processos na indústria química e metalúrgica, onde são explorados com eficácia. Processos como a solubilização de fosfatos através do uso de *Thiobacillus* e microrganismos heterotróficos solubilizadores ou mineralizadores, como *Bacillus* (fos-

fobacterinas) e *Pseudomonas* (produtoras de sideróforos) parecem promissores como técnicas biotecnológicas, mas seu uso em larga escala na agricultura ainda exige avanços científicos. A avaliação da importância direta da biomassa em transformações, fluxos e estoque de metais no solo deveria merecer mais atenção dos especialistas.

As transformações dos metais como Hg, Pb, As, Cd e Ni e outros poluentes ou contaminantes são também influenciadas pelos microrganismos do solo. O processo de mineralização dos restos orgânicos com elevados teores desses elementos resulta na liberação de quantidades elevadas dos metais, podendo atingir concentrações tóxicas no solo. Além disso, outras transformações microbianas podem causar toxicidade às plantas e representar sérias ameaças para a qualidade do meio ambiente e à saúde humana. Entretanto, os microrganismos podem, ainda, desempenhar funções importantes na amenização dos impactos ou remediação de áreas contaminadas por metais.

A reciclagem é uma necessidade premente da sociedade para contrapor o avanço da degradação e exaustão dos recursos do planeta. Entretanto, o uso de rejeitos contaminados com elementos poluidores, como lixo e esgoto compostados e resíduos industriais, deve ser feito com muita segurança, considerando a abundância de elementos potencialmente tóxicos nesse material. O reaproveitamento de rejeitos diversos cresceu muito nas últimas décadas e se consolidará neste início de século, permitindo a reciclagem de grande quantidade de materiais orgânicos no solo. Materiais de matriz orgânica serão aplicados diretamente no solo para promover a decomposição e a dissipação, como no caso de "landfarming" e biorremediação ou como fontes de nutrientes vegetais e matéria orgânica para o solo, atuando, nesse caso, como insumo agrícola capaz de condicionar as propriedades físicas ou químicas do solo. Deve-se tomar muito cuidado com seu uso prolongado, pois pode resultar no acúmulo de metais pesados no solo atingindo concentrações tóxicas para os microrganismos e seus processos, comprometendo a qualidade do solo e oferecendo riscos ambientais.

BIBLIOGRAFIA

ADRIANO, D.C.; BOLLAG, J.M.; FRANKENBERGER JR., W.T.; SIMS, R.C. **Bioremediation of contaminated soils**. Madison: ASA/SSSA, n.37, 1999. 820p.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Eds). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 312p.

BOLIN, B.; COOK, R.B. **The major biogeochemical cycles and their interactions**. New York: John Wiley, 1983. 532p.

BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 2000. v.10, 519p.

BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1990. v.6, 565p.

BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1993. v.8, 418p.

COLEMAN, D.C.; OADES, J.M.; UEHARA, G. **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Hawaii: University of Hawaii Press, 1989. 249p.

KIEHL, E.J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. Piracicaba, 1998. 171p.

MITCHELL, M.J.; NAKAS, J.P. **Microfloral and faunal interactions in natural and agro-ecosystems: developments in biogeochemistry**. Netherlands: Nijhoff, M and Dr. Junk, W. Publishers, 1986. 505p.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. California: Academic Press, 1996. 340p.

PAUL, E.A.; LADD, J.N. **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. v.5, 480p.

SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. 491p.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília, MEC/ABEAS; Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 236p.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142p.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Eds). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS; Lavras: UFLA/DCS, 1999. 818p.

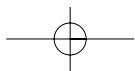
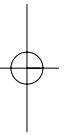
STEVENSON, F.J. **Cycles of soil:** carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. New York: John Wiley, 1986. 380p.

STEVENSON, F.J. **Nitrogen in agricultural soils.** Madison, 1982. n.22, 940 p.

STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. **Soil biochemistry.** New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, 551p.

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

VAN-ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. **Modern soil microbiology.** New York: Marcel Dekker, 1997. 683p.



Capítulo 8

Rizosfera

8.1. Raízes: Funções e efeitos sobre o solo

As raízes são órgãos heterotróficos das plantas cujas principais funções são o suporte e a absorção de água e de nutrientes. No solo, as raízes têm outras importantes funções que são mediadas por meio da liberação de diversos tipos de materiais orgânicos oriundos da fotossíntese. Os fotossintatos são translocados das folhas até as raízes através do floema. O movimento nos tecidos é via simplasto mediante as plasmodesmatas (conexões entre as células). Em qualquer ponto, os fotossintatos podem deixar o simplasto e penetrar no apoplasto (espaços intercelulares), podendo, então, vaziar para o solo ou ser trocados por íons. Estima-se que cerca de 60% do carbono fotoassimilado seja transportado para as raízes (**Figura 8.1**). Desses, 50% são liberados na forma de CO_2 pela respiração e, os outros 50%, utilizados para o crescimento das raízes ou liberados para o solo, contribuindo para o aumento da matéria orgânica do solo e para a nutrição dos organismos. A quantidade de matéria orgânica liberada para o solo pelas raízes pode exceder as melhores produções de trigo, milho e cevada (Balandreau & Knowles, 1978), sendo função direta da superfície radicular que pode ser elevada. Por exemplo, uma planta de centeio de apenas 16 semanas pode ter 13.000.000 de raízes, medindo em conjunto 50 km e tendo como superfície 200 m². Apesar desses números elevados, o sistema radicular dessa planta ocuparia apenas 1% do volume do solo a seu redor. As raízes liberam também íons e gases que podem alterar o ambiente externo favorecendo ou não os organismos e que também podem ser utilizados por eles. Em função de tais características, as raízes têm efeitos significativos sobre o solo que contribuem para alterar tanto as características físicas, químicas ou biológicas a seu redor (**Tabela 8.1**), e que por isso diferenciam fortemente esse ambiente de zonas do solo que não recebem tal influência.

8.2. Rizosfera: Definição

Hiltner, em 1904, denominou “Rizosfera” a zona de influência das raízes que vai desde sua superfície até uma distância de 1 a 3 mm. Alguns autores consideram a distância de até 5 mm. O termo origina-se dos termos gregos rhizo/rhiza e sphaera que significam área de influência e/ou localização física em volta da raiz. A rizosfera é ainda dividida, por alguns autores, em “ectorrizosfera”, a área externa das raízes

408 Capítulo 8 · Rizosfera

(rizosfera “*sensu stricto*”), tendo em torno de 20 μm a partir da superfície da raiz e, “endorrizosfera”, compreendendo os tecidos corticais até o rizoplane, tendo cerca de 10 μm . A superfície limítrofe entre a raiz e o solo é denominada “rizoplane” e tem, aproximadamente, 1 μm de espessura. Outros termos como: “actinorrizosfera” e “micorrizosfera” definem áreas específicas de influência das raízes, respectivamente pelas simbioses de raízes com actinomicetos fixadores de nitrogênio e fungos micorrízicos. O termo “espermosfera” denota a área de influência ao redor das sementes que é mais expressiva durante sua germinação, pois ocorre mobilização de reservas de carboidratos. Assim, a germinação das sementes pode ser considerada o início do efeito rizosférico.

As propriedades físico-químicas da rizosfera têm elevada estabilidade, que, associadas ao fornecimento constante de substratos orgânicos e fatores de crescimento, favorecem intensa atividade metabólica das populações, influenciando direta e positivamente o tempo de geração microbiano. Espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus* têm tempos de geração respectivamente 15 e 2,5 vezes menores na rizosfera do que no solo não rizosférico em vista da maior disponibilidade de substratos. Por isso, considera-se que a rizosfera é o “paraíso dos microrganismos”.

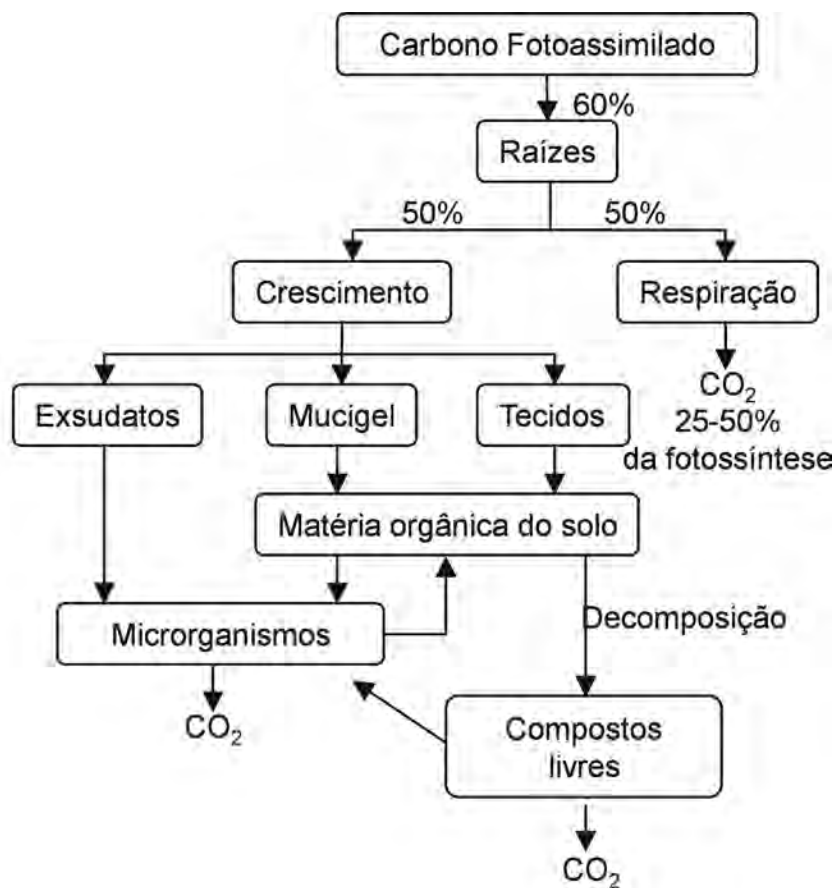


Figura 8.1. Estimativas generalizadas do fluxo de fotoassimilados na rizosfera.

Tabela 8.1. Efeitos das raízes sobre o solo.

FÍSICAS
<ul style="list-style-type: none"> - Ação agregante sobre as partículas do solo - Compressão do solo na interface com a raiz reduzindo a porosidade e distribuição de poros com conseqüências para a aeração e retenção de umidade - Alto potencial de água negativo criado pela evaporação da parte aérea pode causar estresse hídrico nos microrganismos
QUÍMICAS
<ul style="list-style-type: none"> - Precipitação ou acúmulo de sais na interface com redução do potencial osmótico - Modificações no pH (queda de até 2 unidades) - Alteração na relação O₂/CO₂ provocada pela respiração - Liberação de compostos voláteis inibidores e alelopáticos - Liberação de produtos orgânicos diversos (mucigel, exsudatos) que atingem 50-100 mg/g raiz/dia - Liberação das moléculas com ação específica, como mediadores nutricionais, indutores da transcrição de genes (moléculas sinais), fatores de crescimento e compostos quelantes
BIOLÓGICAS
<ul style="list-style-type: none"> - Ecossistema microbiano muito especializado que suporta população várias vezes superior ao solo adjacente (= efeito rizosférico) - O efeito rizosférico estende de 1 a 3 mm de superfície da raiz - Os microrganismos colonizam de 7 a 15% da superfície das raízes - Favorece a proliferação e atividade de microrganismos responsáveis por processos específicos (Ex. amonificação)

8.3. Tipos de materiais orgânicos depositados na rizosfera

Os compostos orgânicos depositados na rizosfera variam desde os simples e solúveis em água até aqueles de grande complexidade e insolúveis em água. Eles podem ser separados em dois grandes grupos: os liberados de células vivas para o solo e os liberados de tecidos senescentes ou mortos. Esses grupos podem ser divididos nas seguintes categorias (**Figura 8.2**):

a) exsudatos:

- têm grande diversidade química;
- baixo peso molecular;
- geralmente solúveis em água;
- resultam de diversos processos metabólicos;
- vazam, sem gasto de energia, das células para os espaços intercelulares e depois para o solo mediante as junções entre as células.

b) secreções:

- peso molecular baixo ou geralmente alto;

410 Capítulo 8 · Rizosfera

- atravessam as barreiras das membranas com gasto de energia metabólica;
- liberados junto com exsudatos;
- resultantes de processos metabólicos;

c) mucilagens:

- polissacarídeos hidratados contendo cadeias de galactose e ácidos galacturônicos com blocos de diversos açúcares tais como glicose, galactose, arabinose e fucose;

- têm diferentes origens: secretados pelo complexo de Golgi das células das pontas das raízes; hidrolisados de polissacarídeos das paredes celulares primárias entre células da epiderme e células descamadas das pontas das raízes; secreção pelas células epidérmicas com paredes primárias (incluindo pêlos radiculares); produção por degradação bacteriana de paredes de células velhas ou mortas;

- também podem ser secretados por microrganismos.

A mucilagem tem aspecto gelatinoso e pode ter de 1 a 10 μm de espessura em solos secos e até 50 μm em solos úmidos. A mucilagem tem a importante função de lubrificação enquanto as raízes avançam no solo e também é um sítio importante de proteção dos microrganismos contra a dessecação.

d) mucigel (matrix):

- material gelatinoso na superfície das raízes que inclui: mucilagens naturais ou modificadas, produzidas tanto por microrganismos como pelas plantas, células bacterianas, outros compostos liberados por plantas e microrganismos, incluindo produtos metabólicos, matéria orgânica e colóides minerais. O mucigel é, portanto, uma mistura de diversas origens, além da planta, e que pode também ser detectado no solo na ausência de plantas. À medida que a raiz cresce, tem efeito marcante na agregação do solo.

e) lisados:

- compostos resultantes da autólise de células epidérmicas velhas ou senescentes.

Alguns autores consideram que os exsudatos compreendem as secreções e ainda compostos de baixo peso molecular que se difundem pelo apoplasto até atingir a superfície radicular; portanto, sem gasto de energia para seu transporte.

Exsudatos e secreções são compostos orgânicos produzidos pelas plantas que têm alta diversidade. Como esses compostos são utilizados pelos microrganismos e também podem ser produzidos por eles, a determinação dos compostos orgânicos excretados pelas plantas na rizosfera deve ser feita na ausência de microrganismos, isto é, em condições axênicas. Esses compostos compreendem vários tipos de: aminoácidos, ácidos orgânicos, carboidratos, derivados de ácidos nucleicos, fatores de crescimento e enzimas, além de diversos outros compostos (**Tabela 8.2**). O composto exsudado em maior quantidade pela maioria das plantas é a glicose (**Tabela 8.3**), que é também um dos compostos mais utilizados pelos microrganismos. Pode-se observar na tabela 8.3 que, na presença de microrganismos (condição não estéril), muitos compostos, como a glicose, por exemplo, têm quantidade reduzida em relação à condição estéril, o que indica que são consumidos pelos microrganismos. Outros compostos, como o ácido glutâmico, são produzidos pelos microrganismos, uma vez que sua quantidade é aumentada na presença deles. Vários compostos exsudados de baixo peso molecular são voláteis (e.g. ácidos graxos, álcoois) a temperaturas e pressões ambientais; assim, eles podem difundir-se a distâncias

além da rizosfera, influenciando os organismos do solo não rizosférico. Alguns desses compostos podem também ter efeitos alelopáticos, abordados em itens posteriores deste capítulo e nos capítulos 5 e 10.

A mucilagem e o mucigel têm grupos carboxílicos (COO^-) e outros sítios de troca de ânions e cátions, pois são compostos por polissacarídeos ácidos, por isso devem desempenhar importante papel na nutrição vegetal, trocando íons e sendo fontes de prótons. Sua natureza hidrofílica relacionada com o grau de hidratação afeta a movimentação de íons a serem adsorvidos pelas plantas. Assim, quanto maior o grau de hidratação, menor a permeabilidade aos íons. Já, esses grupos carboxílicos estabelecem fortes ligações com metais polivalentes das argilas do solo e, portanto, devem influenciar pelo menos parcialmente a agregação e a estabilidade dos agregados. Além disso, eles têm efeito biológico, pois são excelente *habitat* para a microbiota. Quantidades expressivas desses materiais: 700, 300 e 1 250 $\text{m}^3/\text{ha}/\text{ano}$ são relatadas para trigo, cevada e milho

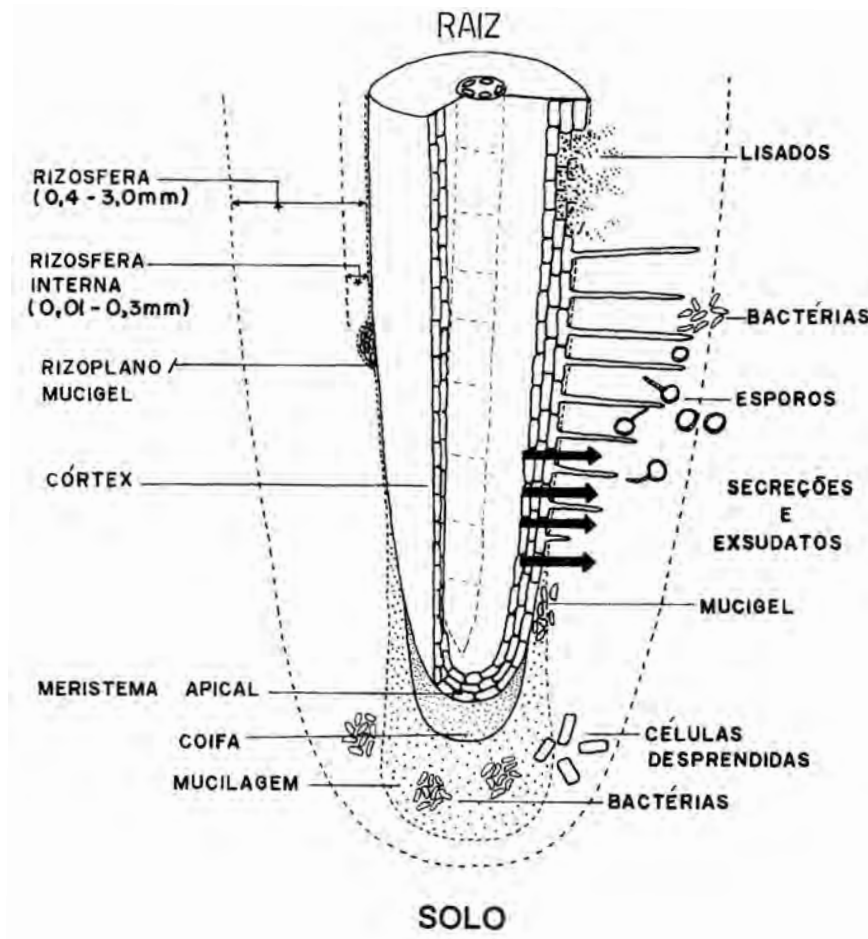


Figura 8.2. Origem dos materiais orgânicos depositados na rizosfera. (Rovira et al., 1979.)

Tabela 8.2. Compostos excretados por plantas crescidas sob condições axênicas (Modificado de Alexander, 1977 e Curl & Truelove, 1986).

Aminoácidos:	Todos os aminoácidos que ocorrem naturalmente
Ácidos orgânicos:	Acético, butírico, fumárico, glicólico, láctico, málico, oxálico, tartárico, valérico, propiônico, cítrico, succínico
Carboidratos:	Arabinose, desoxirribose, frutose, galactose, glicose, maltose, manose, oligossacarídeos, rafinose, ramnosa, ribose, sacarose, xilose
Derivados de ácidos nucleicos:	Adenina, citosina, guanina, uridina
Fatores de crescimento:	p-aminobenzóico, biotina, niacina, colina, inositol, ácido metil nicotínico, pantotenato, piridoxina, tiamina, calisteginas
Enzimas:	Invertases, oxirredutases, fosfatase, protease, urease, amilase, poligalacturonase, celulase, liases, transferases.
Outros compostos:	Auxinas, glutamina, glicosídeos, HCN, p-hidroxibenzoato, peptídeos, saponinas, escopolotina, saponina, flavonóides, aleloquímicos, substâncias fluorescentes

respectivamente (Samtsevich, 1971). Esses valores correspondem a 7,3 e 12,5 toneladas em peso seco por ano, o que excede as melhores produções de certas culturas agrícolas.

A mucilagem na ponta das raízes tem efeito lubrificante no contacto com o solo e protege as raízes da dessecação, o que é necessário, principalmente se considerarmos que a ponta da raiz é uma zona de crescimento ativo (meristema apical) com tecido novo e, portanto, mais delicado. McCully & Boyer (1997) relataram que a mucilagem da ponta das raízes aéreas de milho tem um potencial hidrúico de -11 MPa ou menos quando secas ao ar. Esse valor atinge 0 MPa rapidamente, após 2 minutos de hidratação com água destilada e, nesse tempo, o gel absorve apenas 0,3% do conteúdo total de água do gel completamente expandido. Os autores concluíram que *per se* a mucilagem não têm uma grande capacidade de retenção de água, quando completamente hidratada, e sugeriram que seus efeitos na proteção contra o dessecamento das raízes são indiretos, por exemplo, diminuindo o tamanho dos poros entre e dentro dos agregados do solo, contribuindo para juntar as partículas que os formam e evitando vazios que afetariam a condutividade hidráulica. A consistência gelatinosa da mucilagem também permite o armazenamento de íons necessários para a multiplicação das células.

Compostos orgânicos ou minerais aplicados nas folhas podem ser detectados na rizosfera, os quais incluem: estreptomicina, ácido triclorobenzóico-2,3,6, ácido β -metoxifenilacético e hormônios, entre outros. Em alguns casos, esses podem ser transformados durante a translocação. Alguns compostos aplicados via foliar podem alterar a microbiota rizosférica, seja por sua ação direta (e.g. estreptomicina), seja pela modificação das condições físicas e químicas (e.g. NH_4^+); por isso, têm potencial para uso em controle biológico.

Tabela 8.3. Exsudatos radiculares solúveis de milho crescido por 36 dias em solução de cultivo estéril e não estéril (Krafczyk et al., 1984).

Composto exsudado	Estéril	Não estéril
	----- µg/g raiz seca -----	
Açúcares		
Glicose	7370	3900*
Árabinose	2870	1760*
Frutose	2440	1400*
Sacarose	1590	1720
Ácidos orgânicos		
Oxalacético	2040	3100
Fumárico	3810	4710
Málico	270	190
Cítrico	480	530
Succínico	320	470
Benzóico	200	280
Aconítico	100	110
Tartárico	70	140
Glutárico	30	50
Aminoácidos		
Glutâmico	71	126*
Aspártico	63	52
Alanina	59	44
Glicina	39	32
γ-aminobutírico	30	18
Serina	26	22
Arginina	31	15
Glutamina	12	18
Valina	10	12
Leucina	17	10

* significativo a $p \leq 0,05$

8.4. Fatores que afetam a deposição de materiais orgânicos

Os materiais orgânicos depositados na rizosfera, além de serem extremamente diversos, variam em quantidade e qualidade, dependendo de diversos fatores como: espécie vegetal, idade (**Tabelas 8.4 e 8.5**) e vigor das plantas, tipo de solo e fatores ambientais, como luz, temperatura e umidade, entre outros. Podem, ainda, ser influenciados pelos próprios organismos do solo, como veremos no tópico 8.8. Os fatores que influenciam positivamente a fotossíntese também influenciam positivamente a quantidade de exsudatos. Por isso, plantas mais vigorosas e mais velhas, além de plantas em solos

Tabela 8.4. Efeitos da idade da planta sobre N-amina e açúcares exsudados ($\mu\text{g/planta/semana}$) em várias espécies cultivadas. (Richter et al., 1968; Balarsubramanian & Rangaswami, 1969; Hale et al., 1971).

Cultura	1 a 15 dias		16 a 30 dias		31 a 45 dias	
	N-Amina	Açúcares	N-Amina	Açúcares	N-Amina	Açúcares
Sorgo	0,22	38,3	0,19	44,8	0,14	27,1
<i>Crotalaria juncea</i>	0,28	31,7	0,38	22,4	0,18	19,6
Ragi	0,15	19,6	0,10	16,8	0,09	14,0
	11 a 18 dias	21 a 28 dias	29 a 34 dias	51 a 57 dias		
Alfafa (Só N-Amina)	0,29	0,33	0,33	0,61		

Tabela 8.5. Exsudação de compostos orgânicos de raízes crescidas sob condições estéreis (Newman & Watson, 1977).

Espécie	Idade	Compostos Analisados	Quantidade de
			exsudados
	-----dias-----		-----mg/g *-----
Cevada	0-6	Açúcares	15
Cevada	6-27	Carboidratos e Aminoácidos	42-82
Milho	6-27	Carboidratos e Aminoácidos	6-60
Alfafa	0-28	Carboidratos neutros	247
"Locust"	8-18	Carboidratos incluindo ácidos orgânicos e aminoácidos	38
<i>Pinus</i>	8-18	Carboidratos incluindo ácidos orgânicos e aminoácidos	67-244

* Um valor de 250 mg corresponde a $25 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ de superfície radicular. dia^{-1}

ricos em nutrientes e sob condições ambientais ótimas, tendem a exsudar maiores quantidades de compostos orgânicos.

A quantidade de aminoácidos, por exemplo, parece ser mais elevada em leguminosas fixadoras de nitrogênio, como ervilhas e feijão (**Tabela 8.6**), provavelmente porque têm teor mais alto de nitrogênio em seus tecidos. Já açúcares estão mais elevados em plantas C4, como o sorgo e o girassol, cuja fotossíntese é mais eficiente.

A deficiência de nutrientes afeta principalmente compostos que apresentam o elemento em sua composição. Como exemplo, na **tabela 8.7** observa-se que a deficiência de N afeta a quantidade de compostos nitrogenados, como amidas e aminoácidos. A deficiência de P ocasiona a acumulação de amidas e aminoácidos, pois atua como fator limitante ao seu metabolismo. Injúrias causadas pelos mais

Tabela 8.6. Quantidades de N-amina e açúcares perdidos por "seedlings" de várias espécies cultivadas^a (Compilada por Hale et al., 1978).

Espécie	Quantidade <i>µg / planta / semana</i>	Referências
N-Amina		
Trigo	0,81	Ayers & Thornton (1968)
Ervilha	3,30	Ayers & Thornton (1968)
Alfafa	0,37	Richter et al. (1968)
Sorgo	0,22	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
<i>Crotalaria juncea</i>	0,28	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
Ragi	0,15	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
Tomate	0,05	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
<i>Pinus radiata</i>	0,73	Bowen (1969)
<i>Phaseolus vulgaris</i> ^b	60 to 104	Miller & Schmidt (1965)
Açúcares		
Sorgo	38,3	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
<i>Crotalaria juncea</i>	31,7	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
Ragi	19,6	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
Tomate	7,46	Balasubramanian & Rangaswami (1969)
Amendoim	3,80	Hale (1968)

^a Crescidas em solução nutritiva; ^b Planta crescida em solo estéril.

Tabela 8.7. Amidas e aminoácidos exsudados de mudas de *Pinus radiata* (Moles x 10⁻⁹/planta), raízes de comprimento similar em todos os tratamentos (Bowen, 1969).

Amida ou Aminoácido	Solução Nutriente		
	Completa	P deficiente	N deficiente
Ásparagina	10,9	32,5	3,0
Glutamina	23,6*	52,0	2,8
ácido γ -amino butírico	5,2	13,8	1,0
α -alanina	1,6	2,8	1,2
Ácido aspártico	4,4	9,6	3,0
Ácido glutâmico	6,0	19,7	2,0**
Glycína	7,3	14,0	3,4
Leucina	3,0	5,0	1,8
Serina	4,8	8,0	2,0
Treonina	1,4	2,0	-
Valina	1,8	4,0	0,1
N Total (Amida/Amina)	104,6	248,5	25,1

* Alguma arginina também está presente, mas em pequenas quantidades; ** Incluindo os dois grupos NH₂ de asparagina e glutamina.

diversos fatores (**Tabela 8.8**) podem ocasionar aumento na quantidade de exsudatos (**Tabela 8.9**), influenciando, assim, a disponibilidade de substratos para o metabolismo microbiano, mas também ocasionando estresse na planta.

As espécies vegetais apresentam diferenças marcantes na arquitetura de seus sistemas radiculares, cuja principal consequência é a exploração de diferentes regiões do solo. Outra consequência é que o influxo de nutrientes pelas raízes é heterogêneo, não só no tempo, mas, também, no espaço, com raízes adventícias, laterais, pivotantes, basais, seminais, nodais e laterais, apresentando também diferentes influxos de nutrientes. No entanto, a relação entre a arquitetura do sistema radicular e a exsudação ainda é inexplorada. As poucas evidências sugerem que o padrão de exsudação não é homogêneo ao longo do eixo central do sistema radicular (Walker et al., 2003). Como exemplo, a liberação de fitosideróforos, em resposta a deficiências de ferro, parece concentrar-se nas zonas apicais da raiz (Marschner et al., 1987).

Tabela 8.8. Origem e causas de injúrias nas raízes (Hale et al., 1978).

Origem	Causa
Microbiana e microfauna	Mudança de permeabilidade, dissolução por enzimas, perfuração, toxinas, fatores de crescimento
Manejo	Pesticidas, fertilizantes, estresse hídrico, deficiência e toxidez de nutrientes minerais, práticas de cultivo
Crescimento	Erupção de raiz lateral, abrasão por partículas do solo, descamamento, mudança de permeabilidade, rebrotamento de raízes injuriadas mecanicamente
Estresses Ambientais	Estresse hídrico, pO_2 , pCO_2 , pH, concentração de sais, extremos de temperatura

Tabela 8.9. Açúcares exsudados de frutos de amendoim com e sem injúria (mg/g peso seco de frutos) 24 h em solução de Hoaglands (força 1/4) após escarificação sobre 1/4 da superfície (Hale et al., 1978).

Açúcar	Frutos imaturos		Frutos maduros	
	Sem injúria	Com injúria	Sem injúria	Com injúria
Fructose	0,169	1,079	0,034	0,227
Glucose	0,119	0,475	---	0,136
Galactose	0,024	0,075	—	0,023
Sacarose	0,012	1,275	0,046	1,091
Inositol	+	++++	+	+++
Total	0,322+	2,904+	0,080+	1,477+

8.5. Ambiente físico-químico da rizosfera

Entre os fatores físico-químicos mais alterados no ambiente rizosférico, pode-se citar o pH, influenciado não só pela extrusão de H^+ ou HCO_3^- , mas também pelos exsudatos radiculares, absorção de nutrientes pelo sistema radicular e processos como a fixação biológica de N_2 (**Figura 8.3**). Esta última tende a liberar prótons e reduzir o pH rizosférico devido à incorporação de N_2 como NH_3 . A figura 8.3 ilustra esse processo mostrando que, enquanto o pH rizosférico de uma espécie não

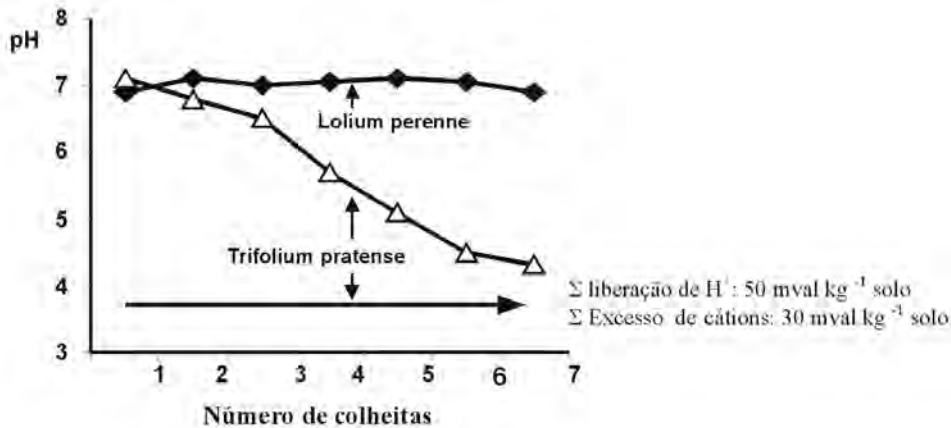


Figura 8.3. Valores de pH na rizosfera de *Lolium perenne* (com nitrato de amônia como fonte de N) e na rizosfera de *Trifolium pratense* (com fixação simbiótica de N₂ como fonte de N). (Mengel & Steffens, 1982.)

Obs.: mval = mmolc.

leguminosa (*Lolium perenne*) permanece constante e em torno de 7,0, o pH rizosférico da leguminosa fixadora de N₂ (*Trifolium pratense*), além de menor, tende a decrescer com o número de cultivos sucessivos em função da acumulação de prótons extruídos.

De modo geral, o pH rizosférico pode diferir de uma a duas unidades em relação ao pH do solo adjacente. Quando a absorção de cátions excede a de ânions, ocorre uma extrusão líquida de H⁺ causando acidez da rizosfera. Já, quando ânions são mais absorvidos que cátions, ocorre extrusão líquida de HCO₃⁻ com conseqüente elevação do pH. Assim, organismos sensíveis ao pH, como *Nitrossomonas*, *Nitrobacter* e o patógeno *Gaeumannomyces graminis*, podem ser drasticamente afetados por modificações na nutrição mineral de plantas.

A pressão parcial de oxigênio (pO_2) e a de gás carbônico (pCO_2) da rizosfera são também diferentes do solo não rizosférico devido à intensa respiração não só das raízes como da comunidade microbiana da rizosfera (**Figura 8.4**). A maior distância da raiz a pCO_2 diminui e a pO_2 aumenta, uma vez que não só o efeito rizosférico como também a comunidade de microrganismos diminui.

O potencial hídrico na rizosfera varia bastante e é influenciado pela planta, pois depende do gradiente existente entre folhas (evapotranspiração) e raízes, que, por sua vez, é influenciado pelos fatores climáticos e edáficos. A tensões maiores ou iguais a -15 bar bactérias geralmente estão em estágio dormente e os fungos e actinomicetos ainda estão ativos, podendo, então, invadir os tecidos vegetais com pouco antagonismo das bactérias. É interessante notar que gêneros de bactérias mais abundantes na rizosfera, como *Arthrobacter* e *Bacillus*, possuem estruturas de resistência (artrósporos e endósporos) a estresses, como a seca prolongada. Para as bactérias endofíticas, o potencial hídrico dentro da planta deve ser considerado. Como exemplo, potenciais hídricos elevados podem diminuir a atividade da nitrogenase em nódulos formados por rizóbio em leguminosas.

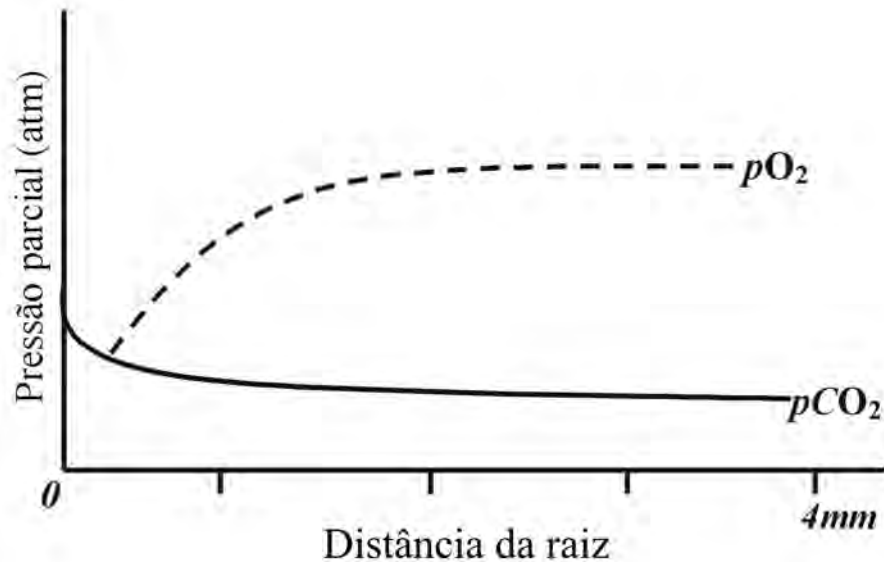


Figura 8.4. Pressão parcial de O_2 (pO_2) e de CO_2 (pCO_2) a diferentes distâncias da raiz.

A osmolalidade da solução do solo rizosférico é mais elevada que naquele não rizosférico, como conseqüência da exclusão de solutos durante a absorção de água pelas raízes, liberação de exsudatos radiculares e de exopolímeros, tanto pelas raízes como pelos organismos. Assim, a adaptação a osmolalidade elevada é importante característica de organismos que colonizam a rizosfera. A osmolalidade pode afetar o estabelecimento e a função de simbioses radiculares e, no caso de outros organismos, sua sobrevivência e colonização endofítica. Assim, os microrganismos rizosféricos devem adaptar-se a essa condição. Espécies de gêneros, como *Azospirillum*, *Rhizobium* e *Escherichia coli*, respondem a mudanças na osmolalidade extracelular mediante a modulação de sua osmolalidade citoplasmática através da produção de solutos compatíveis (SC). Mecanismos osmorreguladores ajustam níveis de SC pela regulação de sua biossíntese, catabolismo, absorção e refluxo. Outra estratégia é através da produção de osmoprotetores (OP), solutos exógenos que estimulam o crescimento bacteriano em meio de alta osmolalidade. Dependendo da espécie bacteriana, um mesmo composto pode atuar como SC ou OP, tais como glicina betaína, glicina prolina, ectoína e trehalose. Esses compostos ainda podem ser fonte de C e N. A trehalose é um dos principais SC em *Pseudomonas* spp. Íons como o K^+ também são importantes como OP. Já em condições hipoosmóticas, isto é, com osmolalidade baixa, a osmo Adaptação envolve alterações na membrana e/ou na composição de proteína periplasmática, composição de lipídeos, acumulação de glicanos periplasmáticos e biossíntese de polissacarídeos extracelulares ou capsulares. Esses mecanismos visam evitar que se percam solutos para fora da célula seguindo o gradiente de concentração, ou seja, do mais concentrado para o menos concentrado (Miller & Wood, 1996). Harris

420 Capítulo 8 · Rizosfera

(1981) classifica os organismos de acordo com seu potencial fisiológico para osmorregulação através da produção de solutos compatíveis em: 1 - não produzem SC - são os mais xerossensíveis (e.g. algumas espécies de *Spirillum*); 2 - só produzem SC induzidos pelo estresse (e.g. maioria das gram-negativas, *Pseudomonas aeruginosa*); 3 - só produzem constitutivamente SC e são incapazes de produção induzida (e.g. espécies de *Arthrobacter*); 4 - produzem SC constitutivamente e induzidos [e.g. maioria das bactérias gram-positivas como *Bacillus* (produtores de esporos) e *Staphylococcus* spp.].

O crescimento das raízes encontra um impedimento mecânico no solo causador de estresse. Quanto maior a pressão do impedimento, maior será seu efeito em diminuir o alongamento das raízes. Essa pressão também pode causar modificações na fisiologia das raízes, aumentando, por exemplo, a quantidade de exsudatos. A **tabela 8.10** ilustra esse fato mostrando que quanto maior o estresse mecânico, induzido por vidros "Ballotini" de diferentes tamanhos, menor é o peso de raízes frescas e maior a quantidade de aminoácidos e carboidratos exsudados, o que ocasiona um decréscimo do seu conteúdo na raiz.

Tabela 8.10. Efeito de estresse mecânico induzido pela presença de vidro ballotini sobre a exsudação de aminoácidos e carboidratos pelas raízes de milho crescido por três semanas em condições estêreis. (Barber & Gunn, 1974).

	Solução nutritiva apenas	Ambiente radicular		
		Ballotini		
		6mm	3mm	1mm
Peso de raízes frescas (g/planta)	3,14	5,37	5,18	3,02
Exsudatos				
Aminoácidos $\mu\text{mol/planta}$				
Em solução	1,82	2,15	2,21	6,72
Na superfície radicular	1,27	0,21	1,23	1,10
Carboidratos mg/planta				
Em solução	1,86	2,79	4,65	17,26
Na superfície radicular	2,20	1,61	2,25	1,47
Conteúdo na raiz				
Aminoácidos $\mu\text{mol/planta}$	11,75	12,89	12,23	12,09
Carboidratos mg/planta	52,04	72,65	61,90	28,45

8.6. Efeito rizosférico sobre a densidade e diversidade microbiana

Como mencionado, a rizosfera é o paraíso dos microrganismos. Calcula-se que por grama de raiz são produzidos: de 10 a 100 mg de exsudatos, 100 a 250 mg de material solúvel e 20 a 50 mg de mucigel, mucilagem e células mortas, mas tais números podem variar dependendo da espécie vegetal e condições ambientais (Tabela 8.5). Devido não só à quantidade, mas também à diversidade de compostos orgânicos depositados na rizosfera, assim como ao ambiente físico-químico, a quantidade de diversos tipos de microrganismos na rizosfera pode exceder mais de mil vezes aquela do solo não rizosférico (**Tabela 8.11**). No caso das algas, esse efeito parece não ser importante, uma vez que são encontradas na rizosfera em números menores que no solo. Isso ocorre porque as algas também realizam a fotossíntese e, assim, não dependem dos compostos rizosféricos, como os outros microrganismos. Por isso, são capazes de colonizar o solo não rizosférico onde substratos orgânicos não estiverem disponíveis.

Tabela 8.11. Densidade de vários grupos de microrganismos na rizosfera de trigo e lupinos (Modificado de Gray & Willians, 1975; Papavizas & Davey, 1961).

Organismos	Nº de propágulos x 10 ⁶ .g ⁻¹		Relação R:S aproximada
	Rizosfera	Solo	
..... Trigo			
Bactérias	1200	53	23:1
Actinomicetos	46	7	7:1
Fungos	1,2	0,1	12:1
Protozoários	0,0024	0,001	2:1
Algas	0,005	0,027	0,2:1
Amonificadores	500	0,04	12500:1
Anaeróbias produtoras de gás	0,39	0,03	13:1
Anaeróbias	12	6	2:1
Desnitrificadores	126	0,1	1260:1
Aeróbias celulolíticas	0,7	0,1	7:1
Anaeróbias celulolíticas	0,009	0,003	3:1
Produtoras de esporos	0,930	0,575	2:1
Tipo "Radiobacter"	17	0,01	1700:1
..... Lupinos			
Bactérias	159000	27300	6:1
Actinomicetos	46700	9100	5:1
Fungos	0,3	0,09	3:1
<i>Aspergillus ustus</i>	0,006	0,001	6:1

Devido ao efeito rizosférico, à medida que a distância da rizosfera diminui, aumenta a incidência de organismos dos mais diferentes grupos, como bactérias, actinomicetos e fungos (**Tabela 8.12**). Os microrganismos colonizam cerca de 4 a 10% da superfície da raiz, formando pequenas colônias dispersas em junções das células epidérmicas ou em orifícios causados por injúrias ou em áreas de células descamadas e na mucilagem nas pontas das raízes, indicando que essas áreas são importantes em termos de exsudação. Portanto, sítios onde exsudatos e materiais orgânicos estão disponíveis, são microssítios favoráveis à colonização microbiana.

Os microrganismos rizosféricos podem se dividir em oportunistas e estrategistas. Os oportunistas são pequenos, de crescimento rápido, têm alta capacidade competitiva e localizam-se, principalmente, nas raízes mais novas. Os estrategistas são maiores, têm crescimento mais lento e alta longevidade, são especializados e predominam nas raízes mais velhas. Podem se dividir, ainda, em saprófitas, simbiontes e patógenos.

O efeito rizosférico não é específico, ou seja, não ocorre favorecimento de determinada espécie microbiana. No entanto, bactérias gram-negativas parecem ser favorecidas na rizosfera como mostrado na **figura 8.5** para trigo e soja, pois têm alta taxa de crescimento e respondem mais imediatamente à adição de aminoácidos e açúcares solúveis, além de produzir e resistir a grande número de antibióticos abundantes na rizosfera, devido ao grande antagonismo entre os microrganismos. Essa figura ilustra, também, o efeito da temperatura sobre as populações microbianas, que, embora associado ao efeito rizosférico de diferentes espécies vegetais e ao não rizosférico (solo), pode-se notar que diferentes grupos de microrganismos (no caso bactérias gram-negativas, gram-positivas e pleomórficas) respondem de modo diferente a variadas faixas de temperatura. O pleomorfismo (ou polimorfismo), capacidade das bactérias assumirem diferentes formas, é mais comum no solo que na rizosfera. Como já visto, a alteração da relação superfície/volume celular é uma das estratégias para adaptação a estresses. Estresses nutricionais são predominantes no solo, porém, na rizosfera podem ocorrer principalmente devido às relações antagônicas entre os microrganismos. Espécies do gênero *Arthrobacter*

Tabela 8.12. Rizosfera de *Lupinus angustifolius* com 18 dias (Papavizas & Davey, 1961).

Distância da raiz	Microrganismos x 10 ³ /g solo seco		
	Bactéria	Streptomicetos	Fungos
..... mm			
0*	159000	46700	355
0 - 3	49000	15500	176
3 - 6	38000	11400	170
9 - 12	37400	11800	130
15 - 18	34170	10100	117
80**	27300	9100	91

* Rizoplano; ** Solo-Controle

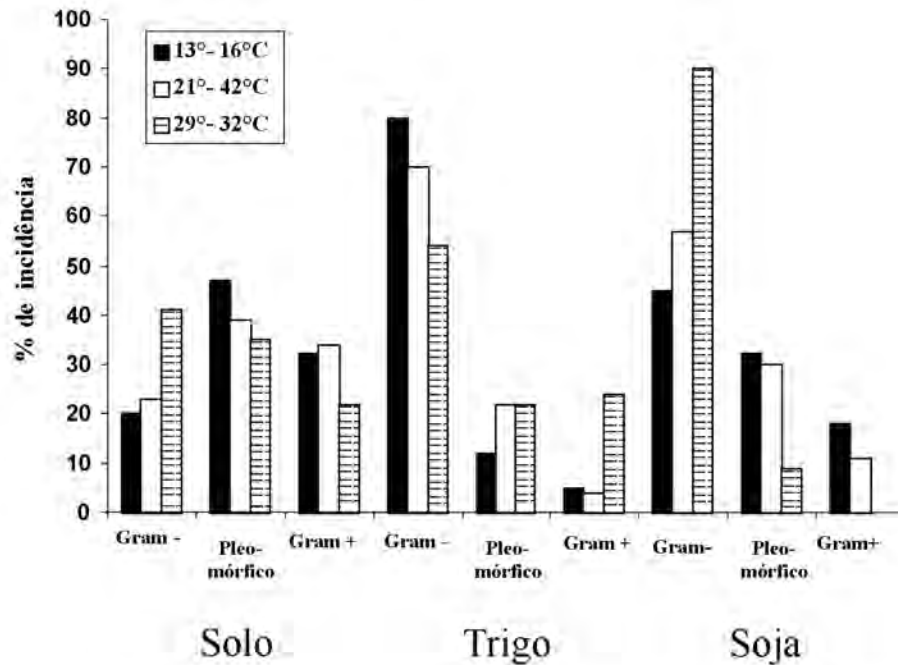


Figura 8.5. Efeito da temperatura na composição bacteriana dos rizoplanos de trigo e soja e no solo. (Rouatt et al., 1963.)

apresentam pleomorfismo (i.e. podem ter várias formas) e são comuns tanto no solo como na rizosfera. Outros gêneros comuns na rizosfera são: *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Xanthomonas* e *Flavobacterium*. Deve-se ressaltar, no entanto, que esses são organismos cultiváveis; assim, a diversidade ou predominância de microrganismos rizosféricos pode ser bastante diferente se considerarmos também que a maioria dos microrganismos (99%) não é cultivável e, portanto, desconhecida. A complexidade nutricional da comunidade bacteriana, ou seja, sua capacidade de crescer em compostos orgânicos mais complexos, como o extrato de levedura e extrato de solo, diminui do solo em direção a rizosfera (**Tabelas 8.13 e 8.14**), uma vez que ali há maior disponibilidade de substratos de cadeia curta, como, por exemplo, a glicose, de mais fácil degradação e, portanto, prontamente disponíveis.

A comunidade microbiana pode variar em função da espécie vegetal, tipo de solo (**Figuras 8.5 e 8.6**) e até da cultivar vegetal (**Figura 8.7**), pois estes influenciarão compostos orgânicos exsudados em quantidade e qualidade, os quais, por sua vez, selecionarão ou favorecerão grupos nutricionais de organismos específicos na rizosfera. Como existe uma comunidade microbiana elevada e diversificada na rizosfera, as relações antagonistas, e, conseqüentemente, o número de antagonistas, tendem também a aumentar em relação ao solo. A figura 8.6 mostra que números significativos de procariotos antagonistas a *Azotobacter*

Tabela 8.13. Percentagens de três grupos nutricionais de bactérias no solo, rizosfera e rizoplano de cevada (*Hordeum vulgare*) (Lochhead & Chase, 1943).

Grupo nutricional	Solo controle	Rizosfera	Rizoplano
I. Sais inorgânicos, glucose	3,8	4,0	6,0
II. Sais inorgânicos, glucose, aminoácidos	12,6	24,0	32,9
III. Sais inorgânicos, glucose, extrato de levedura, extrato de solo	83,6	70,0	59,7

Tabela 8.14. Incidência de grupos nutricionais de bactérias na rizosfera de aveia (Wallace & Lochhead, 1949).

Requerimentos para máximo crescimento	Porcentagem da população total		Contagem total por grama(x10 ⁶)	
	Solo-controle	Rizosfera	Solo-controle	Rizosfera
Nenhum fator especial *	13	33	32	690
Aminoácidos (AA)	2	11	5	230
Vitaminas B	9	11	22	230
AA + Vitaminas B	2	1	5	21
Extrato de levedura	27	19	67	400
Extrato de solo	23	18	57	380
Ext. levedura + Ext. solo	24	7	60	150
Total	100	100	248	2101

* Capazes de crescer em meio simples contendo somente açúcar e sais inorgânicos.

também são influenciados pelo tipo de solo e pela idade de culturas da cebola, rabanete e trigo e que o seu número é muito mais elevado na rizosfera do que no solo. Técnicas moleculares, independentes de cultivo, também têm corroborado claramente o efeito desses fatores na comunidade microbiana. Marschner et al. (2001) mostraram o efeito do tipo de solo, da espécie vegetal, da zona radicular e da interação destes fatores, na estrutura da comunidade bacteriana rizosférica, através da análise por DGGE de fragmentos de 16S rDNA extraídos do solo e amplificados por PCR. Rangel-Castro et al. (2005) mostraram, através das técnicas combinadas de DGGE (genes ribossomais amplificados por PCR) e sondagem com isótopo estável ¹³C, que solos que receberam calagem tinham uma comunidade

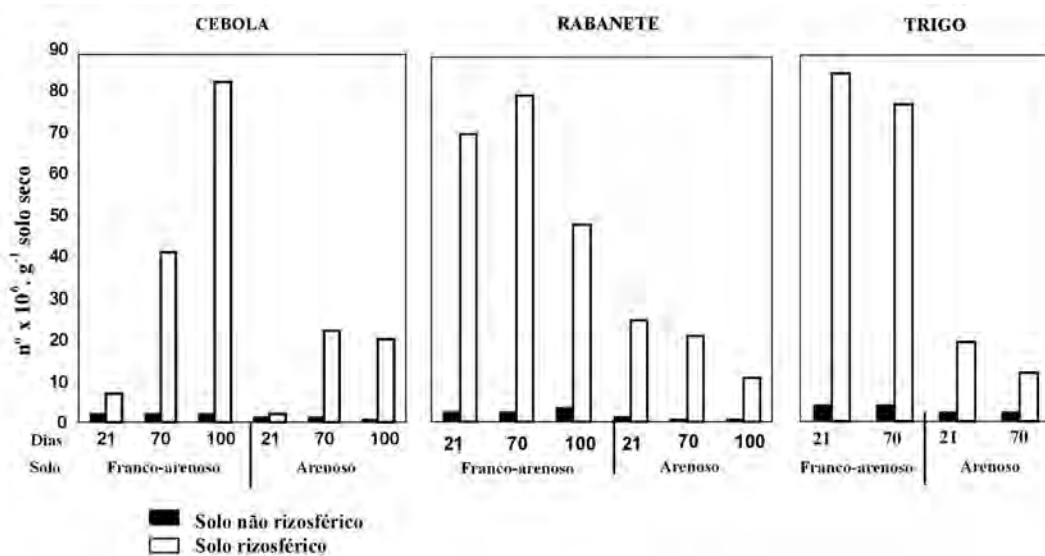


Figura 8.6. Número de microrganismos (bactérias e actinomicetos) antagonistas a *Azotobacter* na rizosfera de plantas em diferentes estádios de crescimento e em dois tipos de solo. (Strzelczyk, 1961.)

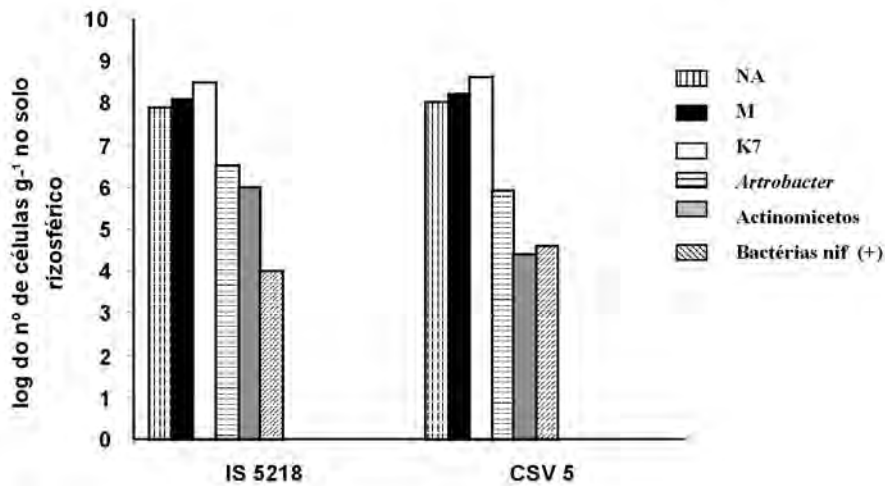


Figura 8.7. Densidade microbiana na rizosfera de duas cultivares de sorgo (IS5218 e CSV5). NA, M e K7 representam contagem de células em três diferentes meios complexos comparadas aos números de *Arthrobacter*, actinomicetos e fixadores de nitrogênio. (Krotzky et al., 1986.)

microbiana (*Archaea*, *Bacteria* e *Fungi*) mais ativa (utilização de compostos com ^{13}C recentemente exsudados) e complexa que solos que não receberam calagem.

Como visto no capítulo 3, diversos fatores edáficos afetam os microrganismos, assim como os substratos para seu crescimento. Portanto, solos sob diferentes sistemas de uso da terra e ecossistemas terão composição microbiana na rizosfera diferente. A **tabela 8.15** exemplifica esse fato, mostrando que a frequência de microfungos cosmopolitas varia em diferentes ecossistemas tropicais brasileiros. Essas espécies são consideradas cosmopolitas, pois são encontradas em altas populações, tanto em solos naturais como em solos cultivados.

Na rizosfera, podem ocorrer também diversas substâncias alelopáticas que inibem (**Tabela 8.16**) ou estimulam os microrganismos, além de outras que atuam como sinais moleculares em simbioses mutualistas ou parasíticas de microrganismos e plantas (**Tabela 8.17**). Compostos aleloquímicos podem sair das plantas por volatilização, lixiviação das plantas ou de resíduos pela chuva, da decomposição de resíduos ou pela exsudação das raízes. Eles variam de gases simples e compostos alifáticos a compostos aromáticos complexos. Tais compostos são derivados do metabolismo secundário, tanto de plantas como de microrganismos, não são essenciais para o seu crescimento, mas desempenham papel importante nas interações entre organismos e no estabelecimento e na manutenção das comunidades vegetais terrestres. As plantas têm o potencial de expressar cerca de 100.000 compostos derivados do metabolismo secundário (Verpoorte, 2000), muitas delas com atividade citotóxica e, portanto, sua acumulação no citoplasma é evitada. Os mais importantes grupos de aleloquímicos são os ácidos fenólicos e seus derivados: terpenóides, cumarinas, esteróides, flavonóides, alcalóides e taninos. Entre os compostos fenólicos encontrados em exsudatos das raízes podem-se citar: ácido benzóico, hidroquinonas, ácido fenilacético, escopoletina, pirocatecol, benzoquinonas e flavonóides. Várias dessas substâncias servem de comunicação entre raízes de espécies vegetais vizinhas, entre raízes e insetos e raízes e microrganismos. Plantas parasitas invadem as raízes de outras plantas absorvendo seus nutrientes e água. Aleloquímicos como flavonóides, *p*-hidroxiácidos, quinonas e citoquininas secretadas pelo hospedeiro induzem a formação de haustórios (raízes modificadas do parasita que penetram no interior dos tecidos da planta hospedeira). Aleloquímicos também podem inibir a germinação ou crescimento de plantas vizinhas. Com relação às interações entre raízes e microrganismos patogênicos, as plantas secretam fitolalexinas, proteínas e outros compostos de defesa. A exsudação/secretção de substâncias que inibem, imitam ou degradam moléculas envolvidas no *quorum sensing* de bactérias parece ser outra estratégia de defesa das plantas contra microrganismos maléficos. As simbioses mutualistas entre plantas e microrganismos serão abordadas em maiores detalhes nos capítulos 9 e 10, que tratam das simbioses de plantas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos respectivamente. Nessas simbioses, flavonóides presentes nos exsudatos das raízes estão envolvidos nos passos iniciais de comunicação entre hospedeiro e microssimbionte, ativando os genes responsáveis pela simbiose (nodulação em bactérias e colonização micorrízica em fungos). Ressalta-se que esse estímulo independe da abundância do organismo no solo: fixadores de N_2 representam apenas 0,1 a 1% da comunidade microbiana rizosférica; já os fungos micorrízicos representam a maior parte da comunidade de fungos nesse ambiente.

Tabela 8.15. Frequência relativa (% total de isolamentos do ecossistema) de espécies de microrganismos *cosmopolitas* e mais comuns no solo e rizosfera de plantas de diferentes ecossistemas da Amazônia Brasileira (Pfenning, 1997).

Espécie de fungo	Ecossistema									
	Floresta primária		Cacau		Pastagem		Culturas anuais			
	Rizoplano	Rizosfera	Rizoplano	Rizosfera	Rizoplano	Rizosfera	Rizoplano	Rizosfera		
<i>Trichoderma hamatum</i>	5,31	5,75								
<i>Gongronella butleri</i>	0,00	2,21	1,90	2,86	6,97	3,48	1,09	4,37		
<i>Trichoderma virens</i>			0,95	1,90	1,00	3,48	0,00	4,37		
<i>Paelomyces lilacinus</i>					1,49	2,49	3,83	1,64		
<i>Trichoderma koningii</i>							1,09	1,64		
<i>Trichoderma parceramosum</i>							0,00	2,73		

* Inclui fungos imperfeitos, zigomicetos e ascomicetos com corp os de frutificação até 1 a 2 mm.* Ocorreram em todos os ecossistemas. Células em branco significam que a espécie não estava entre as doze mais frequentes.

Tabela 8.16. Exemplos de substâncias inibidoras de organismos do solo produzidas pelas raízes.

Cultura	Inibidor	Atuação
Aspargos	glicosídeos	nematóides
Tomate	tomatina	bactérias
Alho	alicina	bactérias
Ervilha	pisatina	bactérias
Feijão	faseolina	bactérias

Tabela 8.17. Sinais moleculares de plantas para microrganismos (Modificado de Halverson & Stacey, 1986).

Sinal molecular	Resposta fisiológica
α -Tocoferol	Indutor de hifa em <i>Uromyces</i>
Ácido galacturônico	Incistamento e hifa em <i>Phytophthora</i>
Ácido aracdônico	Síntese de fitoalexinas
Acetosiringone	Indução Vir promoter <i>Agrobacterium</i>
Opinas	Conjugação Ti plasmídeo <i>Agrobacterium</i>
β + 1,2 glucano	Aderência e virulência em <i>Agrobacterium</i>
Lectinas	Reconhecimento em rizóbio
Flavonóides (e.g. luteolina, daidzeína)	Quimiotaxia e indução de genes Nod em rizóbio
LPS e CPS	Aumenta infecção do pêlo radicular em rizóbio
EPS ácido	Enrolamento do pêlo radicular em leguminosas
CPS (aderência)	Divisão celular e iniciação do nódulo em leguminosas
Flavonóides (e.g. formononetina, apigenina)	Estimula crescimento assimbiótico de fungo micorrízico e micorrização

Exemplos de compostos aleloquímicos com capacidade inibitória a fungos são: catecol, ácido gálico, ácido salicílico, pirogalol e benzoquinonas e, a bactérias, os exemplos são: faseolina, pisatina, isquercetina e taninos.

O potencial da FBN, assim como o de outros processos microbianos, é função: da quantidade de compostos orgânicos depositados na rizosfera, da eficiência da conversão desses substratos e da proporção do substrato utilizada. No entanto, todos esses processos também podem ser inibidos ou estimulados por aleloquímicos.

Na rizosfera, dependendo de diversos fatores, os patógenos podem ser inibidos ou favorecidos através de vários efeitos (**Tabela 8.18**), influenciando na incidência de doenças sobre as plantas. Além disso, relações antagonicas entre os organismos podem afetar a comunidade de patógenos, sendo um importante mecanismo de controle biológico (**Tabela 8.19**). Espécies tanto bacterianas como fúngicas têm sido usadas no controle biológico devido ao seu antagonismo a outros microrganismos. Pode-se verificar que diferenças entre estirpes são importantes em sua ação no controle de fitopatógenos. Dentre as espécies bacterianas, destacam-se diferentes estirpes de *Pseudomonas fluorescens* através da produção de vários metabólitos.

A quimiotaxia é outro importante fenômeno ocorrendo na rizosfera, quando bactérias ou estádios de fungos móveis são atraídos ou repelidos por diferentes substâncias químicas vegetais. As concentrações ótimas para tais agentes quimiotáticos variam de 10^{-3} a 10^{-4} M. Diluições afetam drasticamente seu efeito, mais pronunciado na rizosfera, provavelmente devido à sua liberação constante e maior estabilidade das condições físico-químicas.

Em vista da abundância de material orgânico e de microrganismos na rizosfera é de esperar grande abundância de sua fauna saprófita e predadora. Os mais abundantes pertencem a micro e à mesofauna como os protozoários (incluindo amebas), nematóides e microartrópodes (ácaros e colêmbolas) que, por isso, também ocorrem em números bastante elevados em relação ao solo não rizosférico, além de ser influenciados pelos diferentes fatores, incluindo as espécies vegetais. A **tabela 8.20A** mostra um grande efeito rizosférico de diversas espécies vegetais na comunidade total de nematóides e de alguns nematóides predadores. Na rizosfera de todas as espécies, o número de nematóides foi bem mais elevado que no solo não rizosférico. Deve-se ressaltar também a importância de nematóides como parasitas vegetais que atacam as raízes causando grandes danos a culturas agrícolas. A **tabela 8.20B** demonstra a elevada capacidade de predação por duas espécies de nematóides sobre uma de bactéria (*Pseudomonas stutzeri*) e uma de fungo (*Fusarium oxysporum*).

Torna-se, evidente, portanto, que a diversidade da cobertura vegetal do solo também poderá favorecer a diversidade microbiana, pois, quanto maior a diversidade vegetal, maior a de compostos orgânicos secretados/excretados, os quais, por sua vez, favorecerão o crescimento de organismos com requerimentos nutricionais mais diversos.

Tabela 8.18. Efeitos dos exsudatos sobre propágulos de patógenos.

DIRETOS E INDIRETOS
- Indução da germinação - quebra de dormência (fornecimento de substratos exógenos, reversão de fungistases)
- Fornecimento de nutrientes e fatores de crescimento
- Inibição de competidores específicos por substâncias liberadas das raízes: ácidos cianogênicos, linamarina, aglicone, ácido cianídrico, etileno, ácido butírico, flavonóides, etc.
- Tropismo e tactismo dos propágulos ou tubo germinativo. Ex. zoósporos de <i>Phytophthora</i> são atraídos pelo abacateiro, e não pelos citros

Tabela 8.19. Exemplos de metabólitos de microrganismos antagonistas usados no controle biológico de doenças vegetais (Alabouvette et al., 1996).

Metabólito	Antagonista-Organismo usado para biocontrole	Patógeno	Doença/ Espécie vegetal
Agrocin 84, Agrocin 434	<i>Agrobacterium radiobacter</i> k84	<i>A. tumefaciens</i>	Galhas
Alky pironas	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	"Damping -off"
Amônia	<i>Enterobacter cloacae</i> ECH1	<i>Pythium ultimum</i>	"Damping -off"
2-ceto-D glucanato	<i>P. cepacia</i> B5	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	Murcha bacteriana
2,4-diacetil-pioroglucinol	<i>P. aureofaciens</i>	<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. tritici	Take-all
2,4-diacetil-pioroglucinol e cianido de hidrogênio	<i>P. fluorescens</i> CHAO	<i>Thielaviopsis basicola</i>	Podridão negra da raiz do tabaco
Gliotoxina	<i>Gliocladium virens</i>	<i>P. ultimum</i> , <i>R. solani</i>	Damping-off
Oomicina	<i>P. fluorescens</i> Hv37	<i>P. ultimum</i>	Damping-off
Phenazinas	<i>P. fluorescens</i> 2-79	<i>G. graminis</i> var. tritici	Take-all
Pseudobactina, Ploverdina	<i>P. fluorescens</i> B10	<i>F. oxysporum</i>	Murcha por Fusarium
Pirrolitrina	<i>P. fluorescens</i> 3551	<i>P. ultimum</i>	Damping-off do algodow
Tropolone	<i>P. fluorescens</i> Pf-5	<i>R. solani</i>	Damping-off
	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	
		<i>Fusarium</i> sp.	
		<i>Helminthosporium</i> sp.	
		<i>Pythium</i> sp.	
Zwittermicina	<i>Bacillus cereus</i> UW85	<i>Phytophthora medicaginis</i>	Damping-off da alfafa

Tabela 8.20A. Influência de raízes de diferentes espécies vegetais nas populações de nematóides (Nº /grama de solo seco) (Henderson & Katznelson, 1961).

Nematóide	Cevada	Aveia	Trigo	Soja	Ervilha	Solo não rizostérico
<i>Pratylenchus</i> sp.	16,1	34	33	3	19	1,0
<i>Paratylenchus</i> sp.	10,1	10	22	20	87	0,7
<i>Aphelenchus avenae</i>	5,0	14	4	3	16	0,1
<i>Tylenchida</i>	37,0	48	66	29	132	2,4
Nematóides totais	275,0	135	601	309	708	10,0

Tabela 8.20B. Consumo de *Pseudomonas stutzeri* por *Pelodera* sp. e de citoplasma de *Fusarium oxysporum* por *Aphelenchus avenae* (Ingham et al., 1985).

Tempo (dias)	Biomassa			Citoplasma de <i>F. oxysporum</i> consumida µg/microcosmo/dia
	<i>Pelodera</i> sp. µg/microcosmo	<i>P. stutzeri</i> consumida µg/microcosmo/dia	<i>A. avenae</i> µg/microcosmo	
7	31,9	-	18,8	-
21	80,6	316,0	173,9	726,9
49	177,6	640,0	144,7	604,8
77	109,0	427,3	29,2	122,0
105	111,1	435,6	46,2	193,1

8.7. Microrganismos endofíticos

Microrganismos endofíticos podem ser fungos ou bactérias que, durante todo ou parte de seu ciclo de vida, invadem tecidos de plantas vivas através de infecções não aparentes e sem causar sintomas de doenças. Bactérias que habitam a endorrizosfera são consideradas endofíticas, mas compreendem também espécies que colonizam tecidos internos de outros órgãos vegetais como caule, folhas etc. O solo parece ser a principal fonte dos endofíticos, pois muitas espécies encontradas em raízes, folhas, sementes e óvulos são geralmente similares àquelas encontradas nas zonas do solo adjacentes às raízes. No entanto, vários isolados endofíticos não apresentam similaridade com organismos edáficos e há ainda organismos obrigatoriamente endofíticos (ver capítulo 9). Devem existir, portanto, outras fontes de origem além do solo. Certamente, as sementes são uma delas, onde eles podem sobreviver mesmo por longos períodos de armazenamento. Pontos de entrada dos endofíticos nos tecidos vegetais compreendem: feridas, geralmente associadas a pontos de emergência de raízes laterais ou a fricção com os minerais do solo, estômatos e lenticelas, entre outros. Elas também podem realizar a penetração

através de tecidos intactos, produzindo enzimas hidrolíticas, como as bactérias patogênicas. Sua colonização é principalmente intercelular e com menor frequência intracelular; vasos xilemáticos, porém, geralmente apresentam alta colonização microbiana. Números elevados de bactérias endofíticas até de 10^7 UFC (unidades formadoras de colônia) g^{-1} de tecido fresco podem ser encontrados e seus efeitos sobre as plantas são semelhantes às bactérias da ectorrizosfera: FBN, absorção de nutrientes, controle biológico, produção de substâncias promotoras de crescimento vegetal e alteração da suscetibilidade vegetal ao congelamento. Apesar de sua interação com plantas não envolver compatibilidade morfológica, bioquímica e fisiológica, como nas simbioses de plantas com microrganismos, os endofíticos apresentam uma vantagem em relação aos organismos da ectorrizosfera ou de outras zonas externas aos órgãos vegetais, pois não estão sujeitos à interferência da grande variação dos fatores químicos, físicos e biológicos que ocorrem nessas zonas e que podem afetar os processos mediados por eles.

8.8. Efeitos dos microrganismos sobre as plantas

Num experimento clássico, Barber & Martin (1976) demonstraram que os microrganismos também estimulam a exsudação das plantas. Eles cultivaram plantas em solo estéril e não estéril e observaram que maior porcentagem de CO_2 fixado fotossinteticamente era liberado na rizosfera quando microrganismos estavam presentes (**Figura 8.8**). Já, os microrganismos causam efeitos morfológicos e fisiológicos diversos sobre as plantas, tais como: a) danificação dos tecidos radiculares; b) alterações no metabolismo; c) utilização de certos componentes dos exsudatos; d) excreção de enzimas, toxinas e antibióticos e e) alteração na disponibilidade, acessibilidade e assimilação de nutrientes minerais. Esses efeitos podem ser divididos em maléficos e benéficos. Os benéficos como: decomposição e mineralização da matéria orgânica, fixação biológica de N_2 , nitrificação, amonificação, agregação e estabilidade de agregados do solo, produção de enzimas, vitaminas e co-fatores e simbioses com fungos micorrízicos, além dos maléficos, como: desnitrificação, redução de sulfato, produção de compostos inibitórios e imobilização de nutrientes são abordados em outros tópicos ou capítulos. Outros serão abordados a seguir.

Substâncias reguladoras do crescimento de plantas (SRCP)

SRCP são compostos orgânicos de ocorrência natural que influenciam processos fisiológicos nas plantas em concentrações muito abaixo daquelas nas quais os nutrientes ou vitaminas podem afetar tais processos. Existem cinco classes de SRCP: auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno e ácido abscísico, substâncias estas que podem ser produzidas pelas próprias plantas, sendo chamadas, nesse caso, de endógenas ou fitormônios. Além disso, alguns compostos sintéticos também podem atuar como SRCP. No entanto, uma parcela significativa dos microrganismos rizosféricos, tanto benéficos como patógenos, também produz SRCP que, no caso, é denominada exógena e um mesmo organismo pode produzir mais que uma SRCP (**Tabela 8.21**). Muitos fatores como pH, temperatura, disponibilidade de nutrientes e composição e quantidade de substratos na rizosfera podem afetar a síntese de SRCP por microrganismos. Níveis ótimos de SRCP atuam como estimuladores de crescimento e supraótimos como elicitores de doenças.

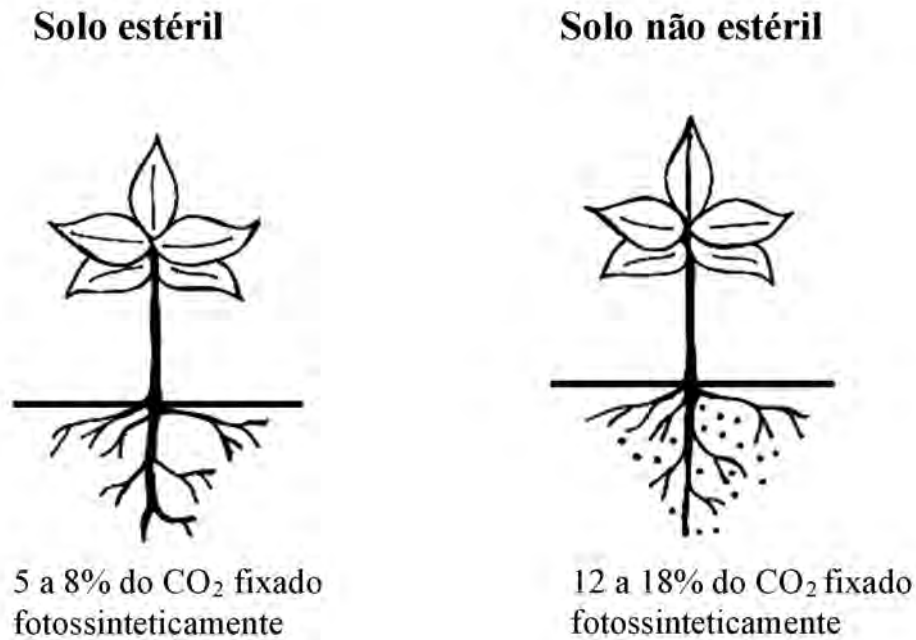


Figura 8.8. Experimento com ¹⁴C realizado por Barber & Martin (1976), demonstrando que a presença de microrganismos estimula a exsudação em plantas.

Tabela 8.21. Produção de substâncias reguladoras do crescimento de plantas (SRCP) por *Azotobacter* e *Azospirillum* spp. (Modificado de Arshad & Frankenberger, 1998).

Espécie microbiana	SRCP produzida (s)
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	Tipo citocinina, auxinas, tipo giberelinas
<i>A. chroococcum</i>	Tipo giberelinas, ácido indolacético, ácido giberélico, tipo citocininas, ribozilzeatina, ribozil dihidrozeatina, isopentenil adenina
<i>A. paspali</i>	Tipo giberelinas, ácido indolacético, tipo citocininas
<i>A. vinelandii</i>	Tipo giberelinas, ácido indolacético, tipo citocininas, isopentenil adenosina
<i>Azotobacter</i> spp.	Tipo giberelinas, ácido indolacético
<i>Azospirillum brasilense</i>	Tipo giberelinas, ácido indolacético, tipo citocininas, ácido giberélico, isopentenil adenina, isopentenil adenosina, zeatina, ácido isogiberélico
<i>A. lipoferum</i>	Ácido indolacético, ácido giberélico, ácido isogiberélico
<i>Azospirillum</i> spp.	Tipo giberelinas

Solubilização de minerais contendo nutrientes

Grupos de microrganismos especializados do solo são capazes de solubilizar minerais contendo P, Ca, K, Mg e outros elementos essenciais às plantas, tornando-os disponíveis para o crescimento vegetal (ver também capítulo 7). Os mecanismos responsáveis pela solubilização geralmente encontram-se associados à excreção de ácidos orgânicos, com conseqüente diminuição do pH. Por isso, uma mesma espécie microbiana pode ser capaz de solubilizar, significativamente, diferentes minerais contendo esses elementos (**Tabela 8.22**). Microrganismos solubilizadores parecem ser mais abundantes na rizosfera de plantas. As **tabelas 8.23 e 8.24** mostram maior porcentagem de solubilizadores de fosfato e de silicato de cálcio no solo rizosférico de diversas espécies vegetais em relação ao solo não rizosférico. Por sua vez, as espécies vegetais, através de efeito rizosférico diferenciado, além de fatores ambientais, também influenciam e favorecem as populações de solubilizadores e, assim, estas podem contribuir de maneira mais significativa para a nutrição vegetal. Por isso, populações de solubilizadores representam porcentagem significativa do número total de microrganismos na rizosfera de várias espécies vegetais (**Tabela 8.25**). Sylvester-Bradley et al. (1982) criaram e testaram meios com novas composições (GL, GES, GAGES e GELP), a maioria deles contendo extrato de solo local como um dos componentes, e encontraram, em geral, maior porcentagem de bactérias solubilizadoras (em relação ao número total de microrganismos) na rizosfera de leguminosas adubadas e não adubadas do que em gramíneas nas mesmas condições.

Absorção e translocação de nutrientes

Plantas em condições estéreis, tanto em hidropônica como no solo, podem absorver nutrientes em menor quantidade do que na presença de microrganismos. O efeito microbiano sobre a absorção de nutrientes pode ser bastante elevado, encontrando-se aumento até de 200% (**Tabela 8.26**). Esse efeito positivo ocorre devido a processos microbianos como FBN, micorrizas e solubilização de minerais que disponibilizam nutrientes em maior quantidade para as plantas.

A translocação dos nutrientes parece também ser afetada pelos microrganismos. Na **tabela 8.27**, verifica-se que, dependendo da espécie vegetal, pode haver maior (tomate) ou menor (trevo) translocação de P para a parte aérea na presença de microrganismos.

Competição por nutrientes

Principalmente em condições com baixa disponibilidade de nutrientes os microrganismos podem competir com as plantas por nutrientes, ocasionando diminuição do seu conteúdo nos tecidos vegetais e conseqüente deficiência de elementos nas plantas. Isso ocorre porque o tempo de geração dos microrganismos é muito menor do que o das células das raízes, causando uma incorporação mais rápida de nutrientes na biomassa microbiana, que, como mencionado nos capítulos 3 e 4 é importante fonte de C-lábil no solo. No caso do experimento cujos resultados encontram-se na **tabela 8.28**, a eliminação dos microrganismos foi feita por fumigação com brometo de metila. Assim, solos fumigados, isto é, sem

microrganismos, apresentaram maior teor de nutrientes, o que se refletiu em maior produção das plantas. Nesse caso, além da eliminação da competição, pode ter ocorrido também liberação de nutrientes pela mineralização da matéria orgânica dos organismos mortos. Isso se deu porque o experimento foi instalado no campo e, assim, houve possibilidade de reinoculação natural do solo (inoculação com outros microrganismos) proveniente do solo adjacente, possibilitando a mineralização.

Tabela 8.22. Solubilização de cátions pela estirpe bacteriana D11 e por *Pseudomonas fluorescens* em meio com glicose (Duff et al., 1963).

D ₁₁			<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
Material insolúvel	Metal solubilizado	Aprox. %	Material insolúvel	Metal solubilizado	Aprox. %
Muscovita	K	10	Apatita	Ca	10
Potassium Taranakite	K	9	Silicato de estrôncio	Sr	30
Phlogophita	K	5	Silicato de cálcio	Ca	50
Hornblenda	Mg	3	Talco	Mg	8
Pectolita	Na	18	Muscovita	K	2
	Ca	26			
Ortoclasio	K	1	Fosfato de ferro	Fe	4
Wollastonita	Ca	65			

Tabela 8.23. Habilidade de solubilizar fosfato de 317 isolados de bactéria obtidos de vasos com solo tratado com fosfato (Louw, 1970).

Fonte de isolados	Número testado	Porcentagem de isolados solubilizadores		
		Fosfato dicálcico	Fosfato tricálcico	Hidroxiapatita
Solo não cultivado	67	32,83	32,83	31,34
Rizosfera de trigo	66	54,54	45,45	40,91
Rizoplano de trigo	40	50,00	47,50	35,00
Rizosfera de lupinos	65	58,46	58,46	43,08
Rizoplano de lupinos	79	58,23	58,33	56,96

Tabela 8.24. Presença de microrganismos capazes de solubilizar silicato de Ca nas rizosferas de *Juniperus virginiana* e *Pinus strobus*, crescendo no mesmo local (Jackson & Voigt, 1971).

Data da amostragem	Amostra e nº. de amostras	Idade da árvore	Média do nº de propágulos viáveis /mg solo	Número de colônias testadas sobre placas com CaSiO ₃	Colônias mostrando solubilização		
					mostrando solubilização	Colônias mostrando forte solubilização	
Jan. 5	<i>Juniperus virginiana</i>	5	4,34 x 10 ⁵	9	56	33	
		5	2,1 x 10 ⁴				
	<i>Pinus strobus</i>	6	4,3 x 10 ³	10	0	0	
		4	2,9 x 10 ⁴				
	Solo não rizoférico	5	---	7 x 10 ²	7	0	0
		6	---	1,0 x 10 ³			
Mai 14	<i>Juniperus virginiana</i>	6	1,8 x 10 ⁴	46	61	11	
		8	6,4 x 10 ³				
	<i>Pinus strobus</i>	6	4,1 x 10 ³	35	81	0	
		9	3,5 x 10 ³				
	Solo não rizoférico	11	---	9,3 x 10 ²	11	73	0
		12	---	7,8 x 10 ²			

Tabela 8.25. Porcentagem de bactérias solubilizadoras de fosfato em relação ao número total de microrganismos (média de 3 repetições) em diferentes espécies cultivadas com e sem adubação em Oxisol da Amazônia (Sylvester-Bradley et al., 1982).

Forrageiras	Adubado (%)	Não Adubado (%)
Gramíneas		
<i>Brachiaria decumbens</i>	23	1
<i>Andropogon gayanus</i>	18	6
<i>B. humidicola</i>	10	3
<i>Paspalum plicatum</i>	10	1
<i>Hyparrhenia rufa</i>	8	32
<i>Panicum maximum</i>	3	9
Leguminosas		
<i>Zornia</i> sp.	85	2
<i>Desmodium ovalifolium</i>	54	38
<i>Pueraria phaseoloides</i>	18	2
<i>Stylosanthes capitata</i>	4	17
<i>S. guianensis</i> (CIAT 136)	4	17
<i>S. guianensis</i> (IRI 1022)	3	4

Tabela 8.26. Influência da presença de microrganismos na absorção de nutrientes pelas plantas (Barber et al., 1975; Loutit & Brooks, 1950; Aleksandrov & Zak, 1950; Barber & Lee, 1974; Bowen & Rovira, 1966; Barber, 1971, *apud* Barber, 1978).

Quantidade absorvida	Planta/condições	Microrganismo		Efeito microbiano (%)
		Presente	Ausente	
N total parte aérea (µg/planta)	Centeio / Hidroponia - 10 ⁻⁵ M KNO ₃	76,9	31,5	+144
P total (n mol/planta)	Centeio / Hidroponia - 5 µM KH ₂ PO ₄	6,34	3,64	+74
P total parte aérea (10 ⁻³ mol/planta)	Tomateiro / Hidroponia Com ³² P / planta	27,0	9,0	+200
K total (mg K ₂ O/planta)	Milho em solo com silicato de potássio	1507	620	+143
Mn total parte aérea (µg / g planta)	Centeio em solo com MnSO ₄ 0,2M	10,7	5,6	+92
Mo total (µg / g planta)	Rabanete em solo com 100 µg Na ₂ MoO ₄	370	616	-40

438 Capítulo 8 · Rizosfera

Tabela 8.27. Absorção e translocação de fosfato marcado com ^{32}P em "seedlings" de tomate e trevo sob condições estéreis e não estéreis (Bowen & Rovira, 1966).

Planta	Período de absorção	Condição das plantas	Absorção de fosfato (10^{-13} mol/planta)			% na parte aérea
			Raiz	Parte aérea	Total	
Tomate	5	Estétil	114	9	131	7,3
		Não estétil	215	27	254	11,1
	20	Estétil	777	36	819	4,4
		Não estétil	1247	159	1453	11,3
Trevo	5	Estétil	666	44	757	6,2
		Não estétil	1138 ^{**}	59	1214 ^{***}	4,9
	20	Estétil	971	119	1225	10,9
		Não estétil	1718 ^{**}	125	1906	6,8

* Diferenças significativas a 5%

** Diferenças significativas a 1%

*** Diferenças significativas a 0,1%

Tabela 8.28. Efeito da fumigação do solo no crescimento, absorção de nutrientes e produção de trigo (*Triticum aestivum*) no campo (Rovira & Hutton APUD Rovira & Davey, 1974).

Análise da planta total no espigamento										
Fumigação	Peso Seco g/planta	Conteúdo de nutriente								
		%							ppm	
		N	P	S	K	Ca	Si	Cl	Zn	Mn
Não	4,8	1,0	0,19	0,12	1,8	0,15	1,1	0,57	5	17
Sim	8,1	1,6	0,35	0,24	3,5	0,21	1,6	0,90	11	42

Colheita final			
Fumigação	Peso total da planta	Grãos	N no grão
	g / parcela	g / parcela	%
Não	973	202	2,0
Sim	2064	418	2,4

Obs.: Fumigação com brometo de metila-cloropicrina (98:2) 400 lb/acre 17 dias antes da semeadura.

Reações de quelação e complexação de metais

O exemplo mais expressivo nesse caso é o das bactérias que produzem substâncias denominadas sideróforos, como *Pseudomonas fluorescens*. Tais substâncias têm alta afinidade por Fe formando quelatos com esse elemento, tornando-o assim menos disponível, principalmente para patógenos que ocorrem na rizosfera, sendo, portanto um dos mecanismos de controle biológico (Tabela 8.19). Espécies do gênero *Pseudomonas* estão entre aquelas que predominam na rizosfera; assim, é de esperar que, para sobreviver em tal ambiente, sejam antagonistas eficientes, através de vários mecanismos.

Patógenos

Patógenos são microrganismos que causam desordens no metabolismo nutrição e/ou fisiologia das plantas resultando em: redução de crescimento e fotossíntese, aumento da respiração, alteração do metabolismo, interferência no sistema energético e translocação de nutrientes, alteração na permeabilidade de membranas e teores hídricos, entre outros. O estímulo rizosférico pode ser exercido também sobre patógenos. Exsudatos estimulam *Fusarium* spp., *Sclerotium cepivorum* (na rizosfera de alho), *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. e *Rhizoctonia solani*, entre outros. A monocultura prolongada tende a estimular os patógenos, pois reduz a diversidade biológica e, conseqüentemente, o equilíbrio biológico. A **tabela 8.29** mostra que tanto no cultivo de uma espécie arbórea (macieira) como no de uma herbácea (trigo), em monocultura por longos períodos, houve aumento do número de micromicetos fitotóxicos e diminuição de seus potenciais antagonistas como *Pseudomonas fluorescens* e actinomicetos. A redução da diversidade biológica está diretamente relacionada com a menor diversidade de substratos rizosféricos em vista da monocultura prolongada.

Tabela 8.29. Efeito do tempo de monocultivo* no favorecimento de micromicetos** fitotóxicos (Vancura & Kunc, 1988, 1989).

Solo com Trigo	Micromicetos (% do total)	Idade da macieira	Organismos na rizosfera		
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Actinomicetos	Micromicetos
Após trevo	12	2 anos	100	100	100
1 ano trigo	17	19 anos	35	41	71
3 anos trigo	29	24 anos	37	29	121
11 anos trigo	45	70 anos	0	36	214

* A redução da diversidade facilita o desequilíbrio biológico; ** Espécies fúngicas, principalmente dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Stachybotris*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Paecilomyces*, etc.

8.9. Tecnologias microbianas

Além das simbioses radiculares, abordadas em detalhes em outros capítulos, outros organismos benéficos para as plantas podem ser manipulados para aumentar a produtividade vegetal. Cooper, em 1959, relatava que, na Rússia, 10 milhões de hectares estavam sendo fertilizados com microrganismos que apresentavam efeito benéfico nas lavouras de 50 a 70% e aumento médio de produção de 10%. Os microrganismos mais utilizados eram os fixadores de N_2 *Azotobacter* spp. (nome comercial Azotobacterin) e *Bacillus megaterium*, solubilizador de fosfato (nome comercial Fosfobacterin). No entanto, no caso desse último, seus efeitos sobre a produtividade das culturas foram posteriormente relacionados a outros efeitos, como a produção de hormônios (ver capítulo 7). Hoje, estão disponíveis resultados promissores com aumento de produção através da inoculação de organismos benéficos de: 5-8% em milho, 24-42% em arroz, 10% em soja e 18-25% em batata.

Kloepper & Schroth (1978) denominaram essas bactérias de Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP) (PGPR = Plant Growth-Promoting Bacteria) e definiram como tais as bactérias que:

- vivem na rizosfera sem estabelecer relações simbióticas com plantas;
- produzem substâncias promotoras de crescimento vegetal;
- interferem na nutrição de plantas;
- fazem controle biológico de fitopatógenos através de: produção de sideróforos, HCN e/ou antibióticos, enzimas extracelulares e competição por nutrientes e sítios de infecção;
- são competidores eficientes que deslocam outros organismos.

Resultados indicam também alteração na suscetibilidade a danos causados pelo congelamento e resistência sistêmica induzida em plantas a patógenos vegetais. Por exemplo, a pré-inoculação com *Pseudomonas syringae* bv *syringae* nas primeiras folhas de plantas de arroz induziu resistência sistêmica das plantas a *Pyricularia oryzae* (Smith & Métraux, 1991).

Os passos envolvidos na colonização da rizosfera de plantas através da inoculação encontram-se na **figura 8.9**. Esta inicia através da inoculação das sementes; geralmente, a cultura microbiana deve ser adicionada a substrato que permita sua aderência às sementes e sobrevivência no solo. A cultura microbiana deve proporcionar densidades de células entre 10^6 e 10^9 UFC por semente (ou g^{-1} solo rizosférico, as quais são necessárias para observar efeito do inóculo microbiano, devido não só para favorecer a intensa competição com outras populações microbianas na rizosfera como também para superar possíveis efeitos abióticos desfavoráveis. O substrato mais utilizado é a turfa, porém, por ser um recurso natural não renovável, têm-se realizado pesquisas no sentido de obter substratos líquidos que garantam a viabilidade do inoculante por longos períodos em números adequados à colonização. Antes da colonização dos tecidos vegetais externos e internos, as bactérias necessitam se multiplicar, o que também pode ser facilitado pelo substrato do inoculante, se este oferecer nutrientes e condições físico-químicas adequadas. No Brasil, inoculantes de RPCP ainda são pouco disponíveis no mercado.

Bactérias fixadoras de N_2 associativas como *Azospirillum* spp. e até algumas estirpes de rizóbio são consideradas RPCP. *Azospirillum*, um dos gêneros mais caracterizados de RPCP, pode estimular o crescimento vegetal através da produção de fitormônios (auxinas, citocininas, giberelinas), aumento na

absorção de nutrientes, produção de vitaminas e de sideróforos, biocontrole de patógenos e organismos deletérios, aumento da resitência a estresses e redução de nitrato, além da fixação de nitrogênio. Rizóbio pode promover o crescimento de não leguminosas como gramíneas, mediante, por exemplo da solubilização de fosfatos. Maiores detalhes sobre resultados com espécies diazotróficas se encontram no capítulo 9. Bactérias que produzem substâncias promotoras de crescimento vegetal já foram abordadas anteriormente e também são consideradas RPCP.

Os microrganismos desenvolveram mecanismos especializados para a assimilação de ferro que incluem, como mencionado, a produção de compostos quelantes de baixo peso molecular conhecidos como sideróforos, que estão envolvidos tanto direta como indiretamente no aumento do crescimento de plantas por organismos rizosféricos. Várias *Pseudomonas* spp. fluorescentes secretam vários sideróforos sob condições limitantes de ferro. Freitas et al. (2003) mostraram efeito benéfico de alguns isolados de *Pseudomonas* do grupo fluorescente sobre o crescimento de plantas de alface em vasos, tanto com solo esterilizado como em não esterilizado.

Outra importante função das RPCP é o controle biológico através da introdução de antagonistas a determinado patógeno pela inoculação de sementes. O controle do patógeno também pode ser feito mediante controle integrado que envolve, além da inoculação, a manipulação ambiental de modo a

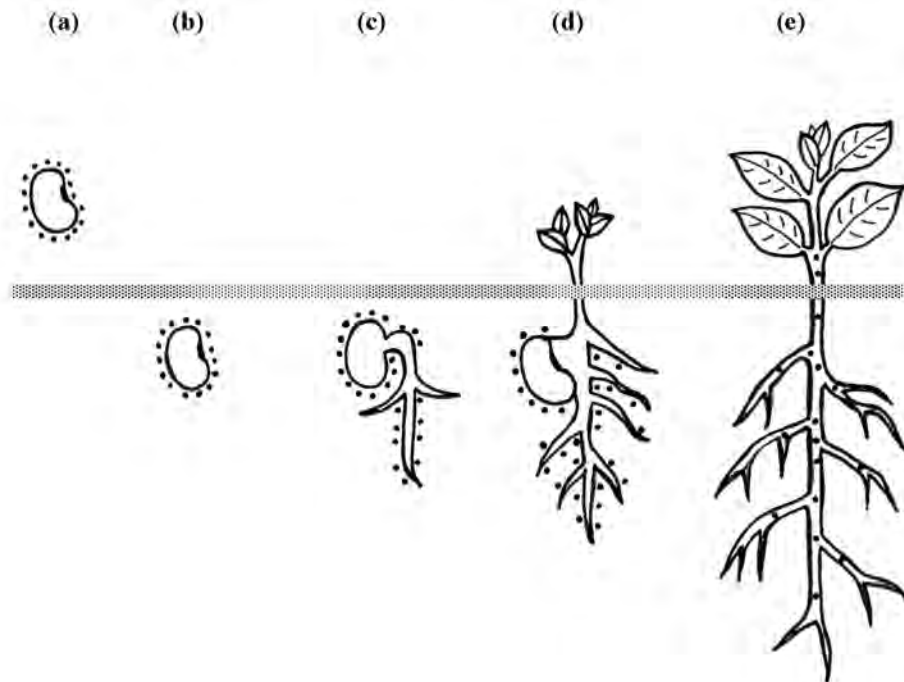


Figura 8.9. Passos envolvendo a colonização da raiz por bactérias aplicadas na semente. As bactérias devem sobreviver à inoculação sobre as sementes (A). Quando a semente é plantada no solo, as bactérias se multiplicam na espermosfera (B). Em resposta aos exsudados da semente, aderem à superfície radicular (C) e colonizam o sistema radicular em desenvolvimento (D). Algumas bactérias colonizam os tecidos internos da raiz e do caule (E). (Kloepper, 1992.)

favorecer o antagonista ou desfavorecer o patógeno (**Figura 8.10**). Fertilizantes podem auxiliar no controle de doenças como o demonstrado na **figura 8.11**, principalmente para P e K, que favoreceram a porcentagem de antagonistas (fungos, actinomicetos e bactérias) a *Fusarium* na rizosfera de algodoeiro. Isso acontece porque plantas bem nutridas são menos suscetíveis ao ataque de patógenos. Provavelmente, o efeito positivo sobre a comunidade de patógenos é indireto, ou seja, através do efeito rizosférico. Já, a adubação nitrogenada pode estimular doenças como as causadas por *Phytophthora*, *Streptomyces* e *Fusarium*, entre outros, em caso de desbalanço nutricional. Micronutrientes como o B e macronutrientes como o Ca parecem contribuir para a menor incidência de doenças, sendo o último responsável, principalmente, pela maior resistência da parede celular à penetração de patógenos. Além disso, fatores edáficos estimulam ou inibem patógenos ou antagonistas, sendo um fator importante a considerar no controle biológico (e.g. pH sobre a sarna da batatinha – Figura 3.21).

Solos podem ser considerados supressivos ou condutivos se inibem ou estimulam em diferentes graus a propagação de doenças como o exemplificado na **figura 8.12** para *Fusarium oxysporum* em melão. Os mecanismos pelos quais os solos podem ser supressivos ou condutivos ainda não estão elucidados. No entanto, fatores bióticos e abióticos, atuando separadamente ou em conjunto podem contribuir para o controle da incidência de doenças, como, por exemplo: textura e estrutura do solo, teor de umidade, tipo de argila, pH, micronutrientes, matéria orgânica e metabólitos microbianos. Por exemplo, incidência de *Fusarium* em repolho parece estar relacionada à ausência de montmorilonita nos solos (**Figura 8.13**). Já o efeito supressivo de alguns solos brasileiros a *R. solani* parece estar relacionado a seu caráter álico (maior saturação de alumínio) (**Figura 8.14**). A supressividade da doença “take all” causada por *Gaeumannomyces graminis* var. tritici é manifestada naturalmente após longos períodos de monocultura de trigo, o que foi relacionado a produção de antibióticos por *Pseudomonas* spp. fluorescentes. Espécie desse gênero é hoje usada no controle biológico da doença (Tabela 8.19). Doença causada por *Phytophthora* em raízes de abacate também pode ser controlada por *Pseudomonas fluorescens*. Yang et al.(2001) demonstraram que as raízes de abacate infectadas pelo patógeno tinham população bacteriana mais diversa que não infectadas e que a diversidade das inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* era similar a de raízes não inoculadas com o patógeno. Esses resultados indicam que a deterioração das raízes infectadas pelo patógeno atraem bactérias que, normalmente, não são competitivas na rizosfera. Outros metabólitos microbianos usados no controle biológico e relacionados à supressividade são listados na tabela 8.19.

O estudo da supressividade do solo a determinada doença deve considerar os fatores bióticos e abióticos responsáveis pela supressividade. A rotação de culturas, a fertilização e a calagem, a solarização e a inoculação das sementes com microrganismos antagonistas são formas de manejo possíveis para esse controle integrado de doenças. As possíveis interações entre os patógenos, os antagonistas e o ambiente são sintetizadas na **figura 8.15**. Perdas severas de produção vegetal por doenças causadas por patógenos adaptados ao ambiente ocorrerão se antagonistas e plantas suscetíveis forem pouco adaptados ao ambiente. Se os patógenos, assim como os antagonistas forem pouco adaptados ao ambiente e as plantas suscetíveis adaptadas, as perdas serão menos severas. Não ocorrerão perdas de produção se plantas resistentes ao patógeno e adaptadas ao ambiente forem obtidas, mesmo que os patógenos sejam adaptados ao ambiente e a população de antagonistas não o seja.

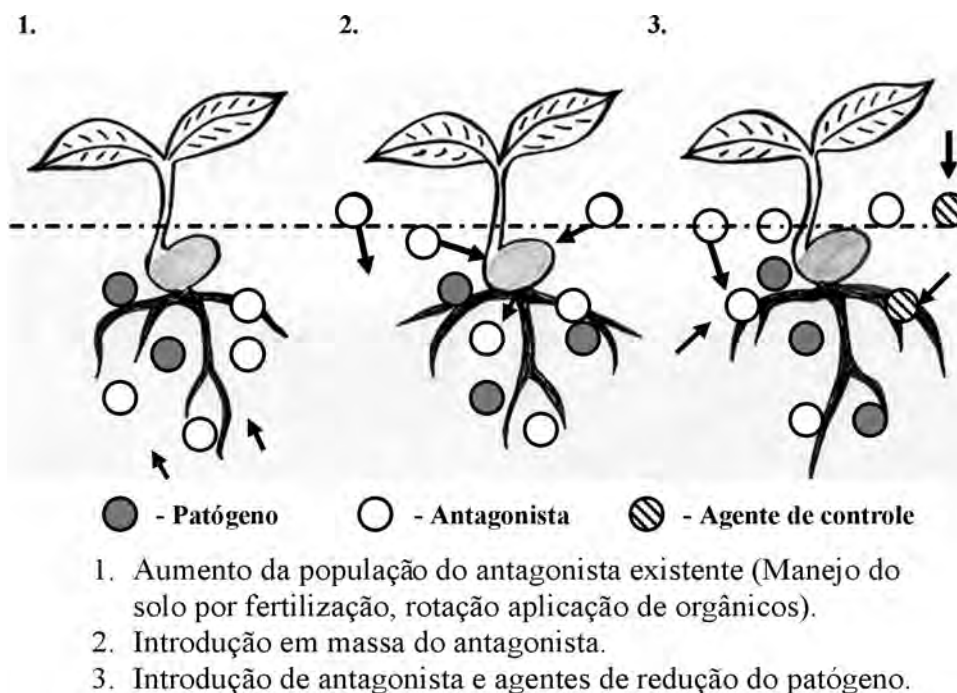


Figura 8.10. Controle biológico de patógenos. (Vancura & Kunc, 1989.)

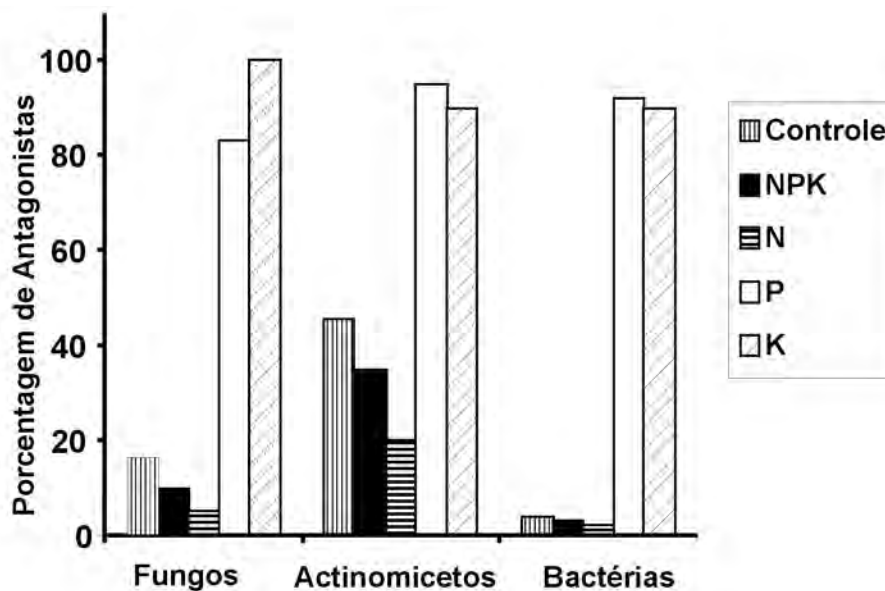


Figura 8.11. Estímulo à população de antagonistas a *Fusarium* através da adubação em algodoeiro. (Sadasiyan, 1965, em Siqueira & Franco, 1988.)

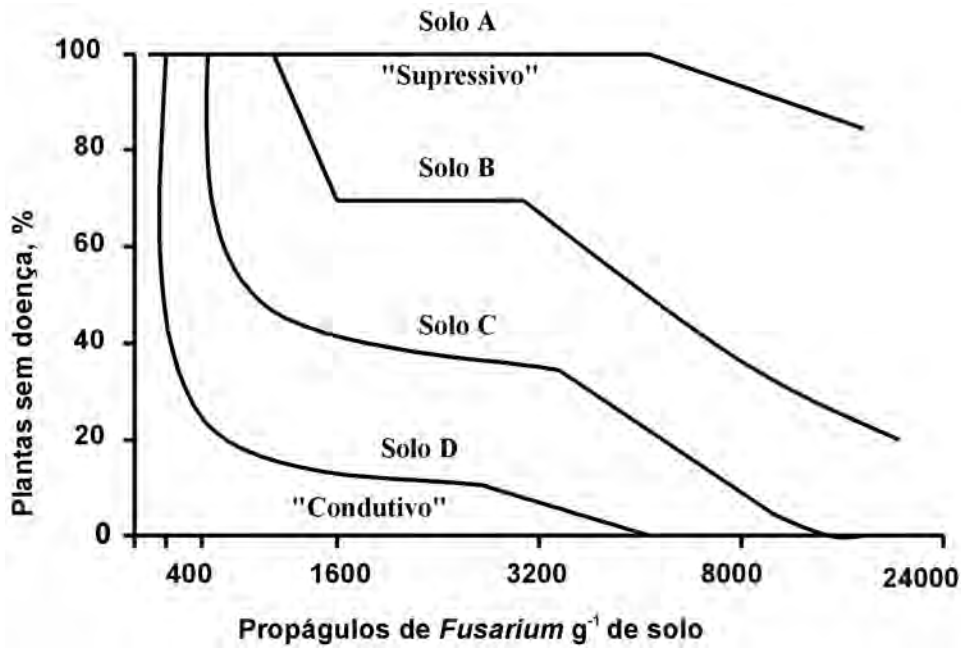


Figura 8.12. Relação entre o potencial de inóculo de *Fusarium oxysporum* na incidência de fusariose em diferentes solos. (Alabouvette et al., 1979, em Siqueira & Franco, 1988.)

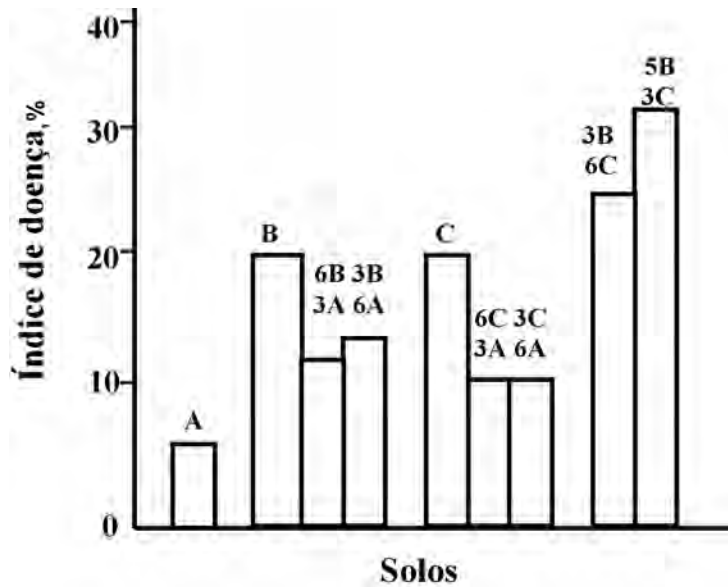


Figura 8.13. Incidência de doença causada por *Fusarium* em repolho em solos supressivos e condutivos devido à presença (solo A) ou não de montmorilonita (solos B e C) (Stotzky, 1972). AB, AC e BC: misturas de solos.

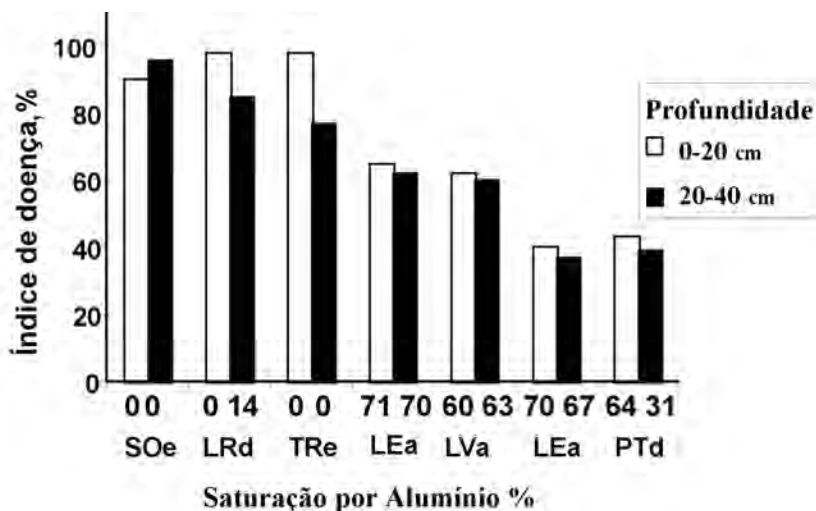


Figura 8.14. Relação entre a porcentagem de saturação de alumínio (Al³⁺) e o índice de doença (ID) causada por *Rhizoctonia solani* em plântulas de soja desenvolvidas em materiais da camada superficial (0-20 cm) e subsuperficial (20-40 cm) de sete solos (médias de 3 repetições). (Rodrigues et al., 1998.)

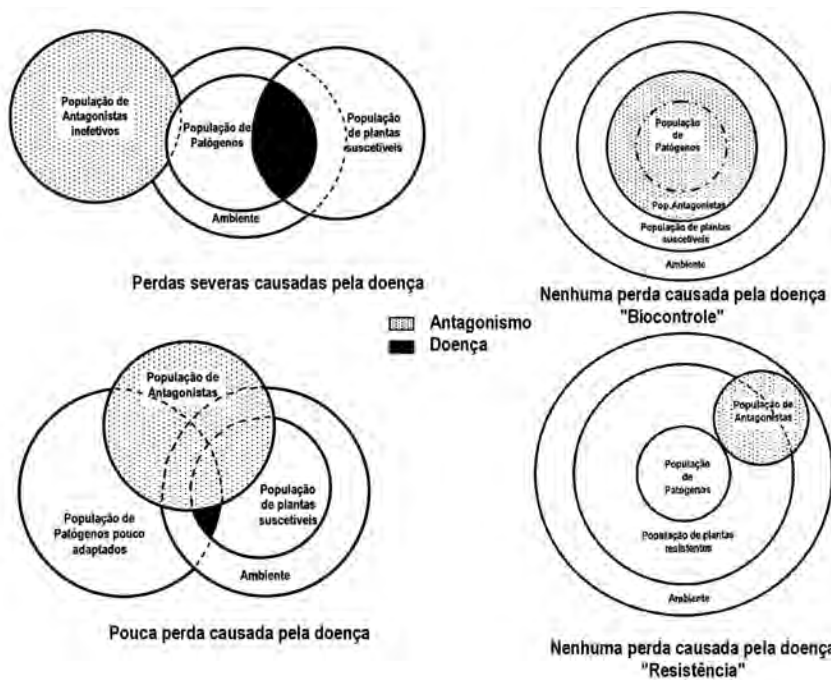


Figura 8.15. Possíveis situações de interação entre as populações de patógenos e antagonistas do solo e suscetibilidade da planta à doença. (Baker & Cooke, 1982.)

446 Capítulo 8 · Rizosfera

Já o controle biológico só será efetivo se a população de antagonistas e da planta suscetível forem adaptados ao ambiente; dessa forma o antagonista poderá ser mais eficiente no controle do fitopatógeno. As características de um bom antagonista são: germinação e crescimento rápidos, pequena exigência nutricional, elevada atividade (enzimas, antibióticos, excreção de sideróforos etc.), elevada tolerância a antibióticos e ampla tolerância ambiental. Simbioses radiculares com organismos benéficos também podem favorecer antagonistas. Frey-Klett et al. (2005) mostraram que a ectomicorrizosfera de *Pseudostuga menziesii* com *Laccaria bicolor* S238N modifica a estrutura de populações de *Pseudomonas fluorescens* e seleciona estirpes potencialmente benéficas para a simbiose e para a planta.

Outro aspecto importante relacionado não só com o controle biológico, mas também com o estabelecimento de organismos benéficos na rizosfera é o fenômeno das microbiostases (fungistases ou bacteriostases). Esse é um fenômeno baseado nos seguintes fatos: propágulos de microrganismos não germinam; se germinam, não crescem ou ocorre disfunção no crescimento ou reprodução. A natureza e os mecanismos envolvidos nesse fenômeno ainda são desconhecidos. Requer, porém, a presença de comunidade microbiana viva, pode ser anulado pela adição de nutrientes e é relacionado com a comunidade total.

Pelo que foi relatado, verifica-se que o sucesso das tecnologias microbianas aplicadas ao ambiente rizosférico, depende do conhecimento dos diversos fatores físicos, químicos e biológicos, e da interação entre eles. Isso representa um grande desafio à Ciência, pois muitos desses fatores e suas interações ainda são desconhecidos, contribuindo, também, para a imprevisibilidade do sucesso na aplicação dessas biotecnologias. Mesmo assim, muitos resultados já são estimulantes, como os apresentados nos próximos capítulos. O aperfeiçoamento de técnicas que estão possibilitando o melhor conhecimento da ecologia e a diversidade microbiana certamente contribuirão para ampliar a utilização de outros organismos benéficos visando ao desenvolvimento agrícola sustentado assim como a qualidade ambiental.

BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 1977. 467p.

CARSON, E.W. (Ed.). **The plant root and its environment**. Charlottesville: University Press of Virginia, 1971. 691p.

CURL, E.A.; TRUELOVE, B. (Ed.). **The rhizosphere**. New York: Springer-Verlag, 1986. 288p.

DOMMERMUES, Y.R.; KRUPA, S.V. (Ed.). **Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. 465p.

METTING-JR., F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology**. New York: Marcel Dekker, 1992. 646p.

NAKAS, J.P.; HAGEDORN, C. (Ed.). **Biotechnology of plant-microbe interactions**. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990. 341p.

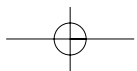
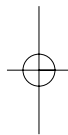
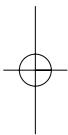
RICHARDS, B.N. **Introduction to the soil ecosystem**. London: Longman, 1974. 265p.

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

TODD, R.L.; GIDDENS, J.E. (Ed.). **Microbial plant interactions**. Madison: SSSA/ASA/CSSA Inc., 1979. 68p. (ASA Special publication, 47).

VAN ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. (Ed.). **Modern soil microbiology**. New York: Marcel Dekker, 1997. 683p.

WERNER, D. **Symbiosis of plants and microbes**. New York: Chapman & Hall, 1992. 389p.



Capítulo 9

Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico

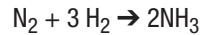
9.1. A disponibilidade de nitrogênio para os organismos vivos

Os quatro elementos essenciais mais abundantes nos organismos vivos são o carbono, o hidrogênio, o oxigênio e o nitrogênio. Parte dos organismos eucarióticos e dos procarióticos obtêm os três primeiros elementos do ar e de doadores de elétrons através dos metabolismos fototrófico (acoplado à fotossíntese) e quimiolitotrófico. As plantas, outros eucarióticos fototróficos e cianobactérias utilizam como doador de elétrons a água (fotoaquatróficos). Outras espécies de procarióticos fototróficos usam substâncias inorgânicas (e.g. H_2 , compostos de enxofre reduzidos) como doadores de elétrons (vide capítulo 2.12).

Com relação ao nitrogênio, a maior parte dele, no planeta Terra (93,8%), está na crosta terrestre. Os 6,2% restantes estão na ecosfera. Nesta, 99,96% do nitrogênio está na forma de N_2 na atmosfera e, os restantes 0,04%, nas formas combinadas orgânicas ou inorgânicas existentes nos ecossistemas aquáticos e terrestres (Roswall, 1979). Os animais, os vegetais e a maioria dos microrganismos dependem dessa pequena parcela de N nas formas combinadas, pois o imenso reservatório de N_2 que compõe cerca de 78% da atmosfera não é acessível nutricionalmente a todos os eucariotos (incluindo as plantas) e à maioria dos procariotos. Apenas uma parcela relativamente pequena das espécies de procariotos possui a enzima nitrogenase que é capaz de reduzir o N_2 para a forma inorgânica combinada NH_3 que pode então, tornar-se disponível para plantas e outros organismos, os quais são chamados de fixadores de N_2 ou diazotróficos, e o processo que mediam – a Fixação Biológica de N_2 (FBN) – é representado pela seguinte equação nas condições normais de temperatura e pressão:



O nitrogênio atmosférico também pode ser fixado, ou seja, transformado em NH_3 através de processos industriais, como o Haber-Bosch, que produzem parte significativa dos fertilizantes nitrogenados usados nos sistemas agrícolas e florestais. Como a ligação tripla que une os dois átomos de nitrogênio é muito forte, para seu rompimento mediante a fixação industrial, são necessárias temperaturas ($> 400^\circ C$) e pressões elevadas ($> 10^7$ Pascal), como indicado pela equação a seguir, e obtidas por meio de derivados de petróleo, o que eleva os custos de sua produção.



No processo biológico, a energia utilizada é o ATP, produzido através da energia solar convertida em energia química, ou seja, uma fonte renovável. Como se verá nos próximos tópicos, os fotossintatos são importantes para a FBN e para os organismos fixadores de N_2 porque:

- geram força redutora e ATP para o sistema nitrogenase;
- são substratos para crescimento e manutenção das células microbianas;
- suprem esqueletos de carbono, ATP e força redutora para a assimilação de NH_3 .

Portanto, condições ambientais ou manipulações que aumentem a disponibilidade de fotossintatos também elevam a FBN.

Outro processo de fixação de nitrogênio que ocorre na natureza é mediante descargas elétricas na atmosfera. Estimativas da contribuição desse processo, no entanto, são relativamente baixas quando comparadas aos processos industriais e ao biológico (**Tabela 9.1**). Embora a contribuição dos processos industriais seja bastante significativa em se tratando dos sistemas manejados agrícolas e florestais, se forem considerados também os ecossistemas naturais, o processo biológico contribui com a maior parte do nitrogênio fixado anualmente no planeta – 175×10^6 toneladas (Tabela 9.1), ou seja, cerca de 65% do total.

Outros aspectos comparativos entre os fertilizantes nitrogenados e a FBN encontram-se resumidos na **tabela 9.2**. Em termos gerais, tanto ecológicos como econômicos, pode-se verificar que a FBN é mais importante que a fixação industrial.

Tabela 9.1. Fixação anual de nitrogênio atmosférico (Modificado de Burns & Hardy, 1975 e Keeney, 1982).

Fonte de fixação	Milhões de toneladas de N por ano
Industrial (fertilizantes)*	49
Atmosférico (eletroquímica)	30
Outros processos químicos	21
Fixação biológica total	175
Oceanos	36
Total sistemas terrestres*	139
Leguminosas ($140 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)*	35
Cultura do arroz ($30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	4
Pastagens ($15 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	45
Outras culturas ($5 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	5
Ecossistemas florestais ($10 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	40
Outros sistemas ($2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	10

* Estimadas em 1998 por Postgate como sendo 65, 180 e 120 milhões de toneladas de N por ano, respectivamente para a fixação industrial (fertilizantes), total dos sistemas terrestres e leguminosas.

Tabela 9.2. Aspectos relacionados ao processo de fixação do N₂ atmosférico por via industrial e biológica.

Industrial (Fertilizantes)	Biológica
<ul style="list-style-type: none"> - É um processo caro, tem alta demanda energética, consome fósseis e pode ser poluente. - Fertilizantes nitrogenados (FN) exigem cuidados especiais para o transporte e armazenamento, pois alguns são inflamáveis e explosivos. - FN geralmente têm baixo aproveitamento agrônômico e podem ser poluentes de solo, água e atmosfera. - FN representam de 5 a 20% do custo de produção das culturas. - Expansão é limitada pelo capital e impacto ambiental. - FN representam apenas 2% da absorção total de N pelas plantas. - São fixados 49 milhões de Mg de N₂/ano. 	<ul style="list-style-type: none"> - É um recurso natural renovável e passivo de manipulação. - É barato e sem impacto ambiental. - Consome em torno de 2,5% da energia da fotossíntese do planeta. - Mecanismo responsável por 65% do N₂ incorporado nos seres vivos do planeta. - Estima-se que a vida no planeta terminaria em 30 anos se a FBN parasse. - Representa 8,5% da absorção total de N. - São fixados 175 milhões Mg de N₂/ano (139 nos ecossistemas terrestres).

9.2. A nitrogenase

A enzima nitrogenase é composta por duas unidades básicas: uma ferro-proteína que coleta a força redutora e energia e outra ferro-molibdênio, proteína que coleta e reduz o substrato (**Figura 9.1**). Outros dois tipos de nitrogenase independentes de molibdênio são também conhecidos, um contendo vanádio no lugar de molibdênio e outro contendo apenas ferro. Esses tipos já foram encontrados em espécies dos gêneros: *Clostridium*, *Rhodobacter*, *Anabaena*, *Rhodospirillum*, *Heliobacterium* e *Azospirillum*. A nitrogenase é uma enzima extremamente versátil, pois, além do N₂, catalisa a redução de vários outros substratos (**Figura 9.2**). Entre essas, a atividade de redução do acetileno (C₂H₂) para etileno (C₂H₄) (ARA) (Dilworth, 1966) tem particular importância nos estudos de sistemas fixadores do N₂. A ARA, cuja medida é realizada por cromatografia gasosa, é uma técnica bastante sensível, relativamente rápida e de baixo custo, além de fácil condução (vide capítulo 3). Ela pode ser realizada em estudos qualitativos, ou seja, para detectar a presença da enzima e, conseqüentemente, de um organismo fixador de N₂. Graças a ela foi possível a descoberta de novas espécies de diazotróficos. Essa técnica pode ser usada também em avaliações quantitativas ou comparativas da FBN; nesse caso, porém, sua adequação é bastante discutida (Boddey, 1987; Giller, 1987; Vessey, 1994; Minchin et al., 1994). Entre outras limitações, as extrapolações da quantidade de acetileno reduzido para N fixado devem ser cuidadosas, pois existem evidências de que a relação entre a redução dos dois substratos pode variar, dependendo da espécie fixadora e das condições ambientais.

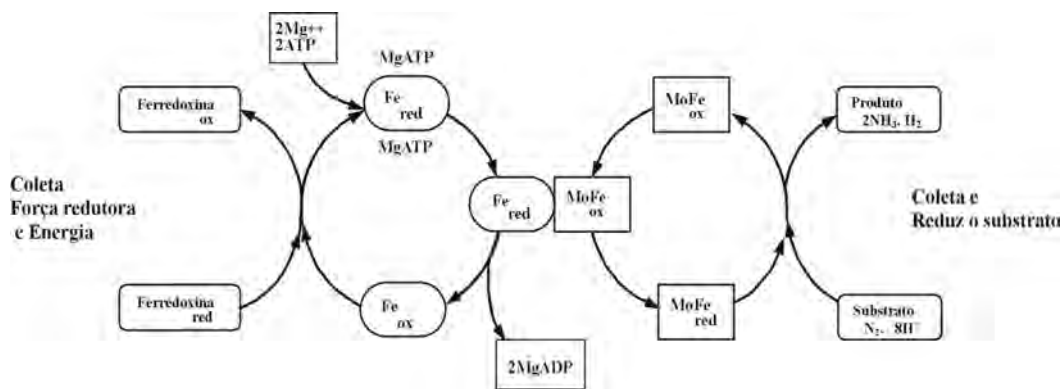


Figura 9.1. Modo de ação da nitrogenase Fe-Mo.

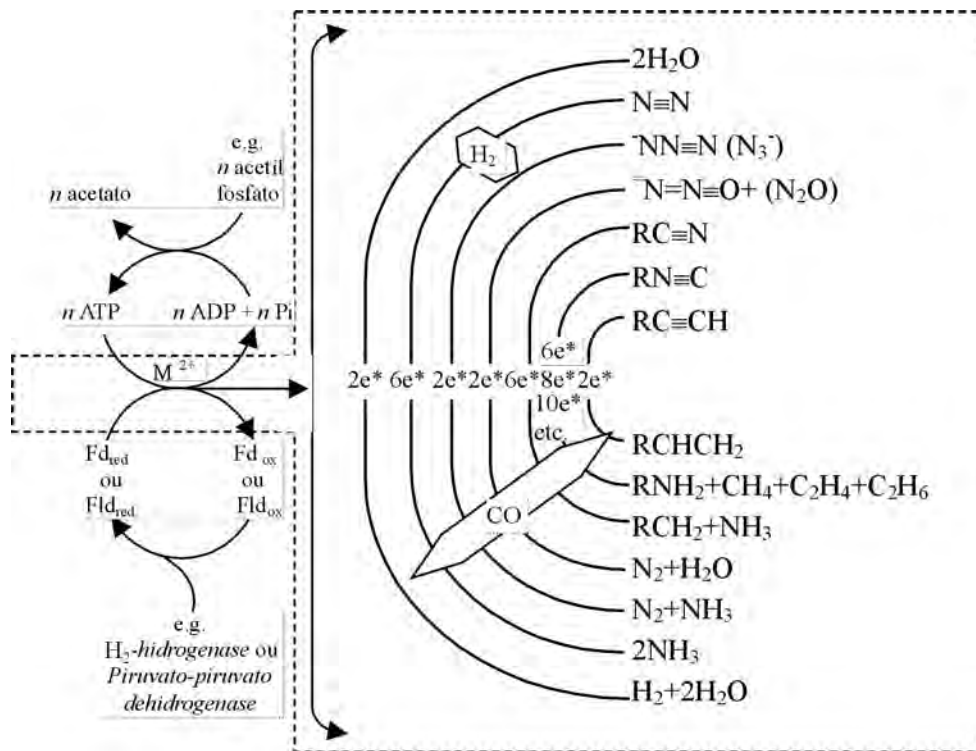


Figura 9.2. Reações mediadas pela nitrogenase mostrando substratos, produtos, inibidores e doadores de elétrons.

Por mediar processos redutivos, a nitrogenase (Eh cerca de -400 mV), de modo geral, é extremamente sensível ao oxigênio. A única exceção é o termófilo quimioautotrófico *Streptomyces thermoautotrophicus* (Ribbe et al., 1997), cuja nitrogenase só funciona a temperaturas elevadas. Para neutralizar a incompatibilidade entre o processo de fixação de N₂, que é estritamente anaeróbico, e seu metabolismo, os diazotróficos aeróbios desenvolveram vários mecanismos para proteger o sítio da nitrogenase da interferência do oxigênio, seja por consumo do oxigênio excedente, barreiras à difusão, seja por mecanismos de compartimentalização, conforme apresentados a seguir:

a) Proteção respiratória

As altas atividades respiratórias, encontradas em *Azotobacter* spp., foram primeiramente sugeridas como proteção do sítio da nitrogenase por Dalton & Postgate (1969). As células de *Azotobacter* são capazes de ajustar, até certo nível, seu coeficiente respiratório, de modo a manter a concentração de O₂ na superfície da célula igual a zero. Isso significa, por exemplo, que se a pressão parcial de oxigênio (pO_2) de uma cultura de *Azotobacter* for aumentada, as células passam a respirar mais rapidamente, procurando consumir todo o oxigênio através de respiração não acoplada à geração de ATP e, portanto, gastando excessivamente as fontes de carbono;

b) Proteção conformacional

Outro mecanismo sugerido por Dalton & Postgate (1969), também para *Azotobacter* spp., é a existência de formas da nitrogenase conformacionalmente protegidas, ou seja, se a pO_2 da cultura aumentar além da capacidade das células de elevar sua atividade respiratória, a enzima passa a uma forma na qual os pontos sensíveis ao oxigênio são protegidos por sua localização espacial do acesso do oxigênio e portanto do efeito prejudicial conseqüente de tal acesso. Aqueles autores explicam o mecanismo em termos de “desliga” e “liga”, ou seja, quando há excesso de O₂ prejudicial à enzima, esta “desliga” ficando conformacionalmente protegida. Se o nível de oxigênio cai a uma pO_2 satisfatória, a enzima “liga” e volta a sua forma ativa;

c) Produção de polissacarídeos extracelulares

Essa é uma característica presente em diazotróficos de várias famílias. Como é um caráter controlado geneticamente, sua composição varia entre espécies (Mulder & Brotonegoro, 1974). Células de *Derxia* e de *Beijerinckia* produzem, abundantemente, um tipo de goma que torna suas colônias extremamente elásticas (Moreira, 1994a). Vários autores consideram que assim se forma uma cobertura protetora das células, limitando o acesso de oxigênio, o que é corroborado pelo fato de que a produção é maior quando o meio não tem nitrogênio na forma combinada. Os polissacarídeos extracelulares são, também, importantes nos processos de reconhecimento simbiote e hospedeiro, o que será abordado em tópico seguinte;

d) Relação superfície/volume celular

Células de *Azotobacter* têm, geralmente, maior tamanho em relação à média das bactérias; isso ocasiona uma razão superfície/conteúdo celular menor, o que seria um modo de impedir excesso de absorção de O₂;

e) Formação de células especializadas

Cianobactérias dos gêneros *Anabaena* e *Nostoc* possuem, além de células vegetativas, um tipo de célula denominada heterocisto com paredes espessas que limitam a entrada de oxigênio. A fotossíntese é realizada nas células vegetativas, que possuem os fotossistemas I e II. Nos heterocistos, localiza-se a nitrogenase e apenas o fotossistema I, não ocorrendo, portanto, a fotossíntese (**Figura 9.3**). Quando *Anabaena* está em simbiose com a pteridófito *Azolla* e, portanto, recebendo fotossintatos da planta, a FBN é mais necessária que a fotossíntese, ocasionando um aumento no número de heterocistos em relação às células vegetativas. Nas simbioses do actinomiceto *Frankia* com diversas espécies vegetais, as vesículas do microrganismo, com espessas paredes, são o sítio da nitrogenase (Meesters et al., 1987);

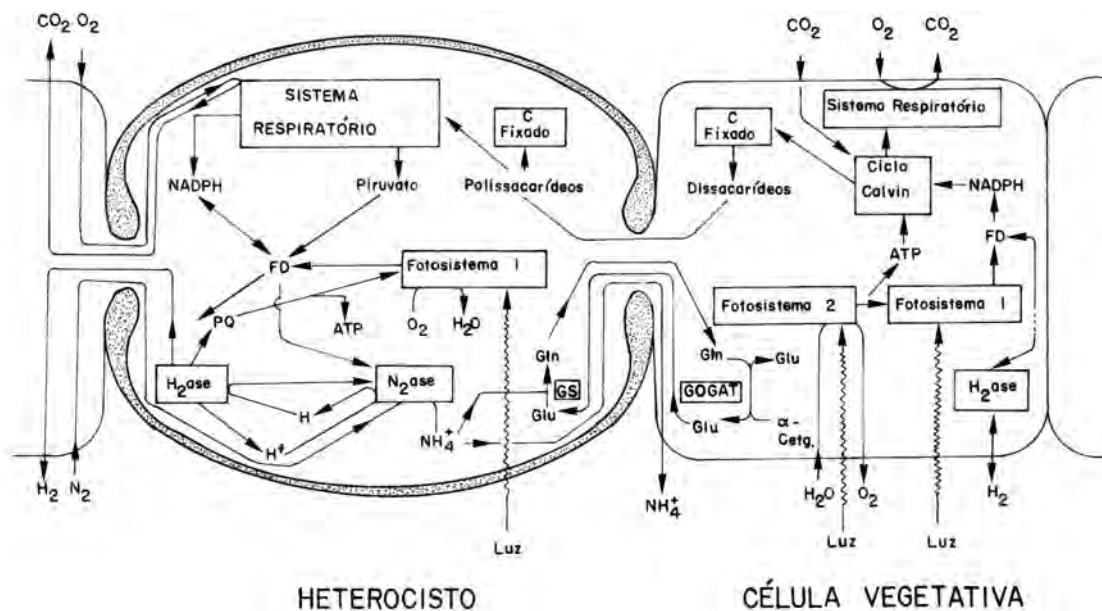


Figura 9.3. Célula vegetativa e heterocisto de cianobactérias contendo respectivos sistemas fotossintéticos e da nitrogenase.

f) Locomoção das células

Por não possuírem mecanismos de proteção mais eficientes, certas espécies são microaerofílicas quando fixam N_2 . *Azospirillum* spp. e *Herbaspirillum* spp., por exemplo, têm movimento ondulatório rápido e característico que lhes permite locomover-se até sítios onde a pO_2 é baixa, ou seja, adequada para respiração e sem excessos que possam afetar a nitrogenase. Cultivos de enriquecimento dessas espécies são feitos em meios de consistência semi-sólida, onde ocorre um gradiente de difusão de O_2 . Conforme as células se multiplicam, vão-se aglomerando, e a demanda por maior quantidade de O_2 para a respiração faz com que suportem pO_2 mais elevadas e assim podem mover-se até a superfície do meio formando uma película. Se por ação mecânica a película é quebrada, a atividade da nitrogenase cessa e só é restabelecida quando a película volta a formar-se;

g) (Leg)-hemoglobina e nodulação

O mais evoluído dos mecanismos é o que ocorre nas simbioses de rizóbio com espécies da família Leguminosae e de *Parasponia* spp. e nas simbioses de *Frankia* com espécies de oito famílias botânicas. Nessas simbioses, o microssimbionte localiza-se em hipertrofias especializadas originadas do córtex ou do periciclo da raiz ou excepcionalmente do caule, que se denominam de nódulos. Dentro dos nódulos, substâncias com função e composição semelhantes à hemoglobina (nas leguminosas – leg-hemoglobina) transportam oxigênio para os microrganismos. Como mencionado, a produção de ATP pelas vias aeróbias é essencial para a fixação de N_2 . A hemoglobina que tem alta afinidade pelo oxigênio age como um tampão, mantendo baixa a concentração de O_2 no meio e provendo oxigênio ao microssimbionte numa taxa constante, prevenindo, assim, flutuação excessiva dos níveis de O_2 . Quando fora de estruturas nodulares, células de rizóbio não têm a proteção da leghemoglobina. Kurtz & La Rue (1975), Bergensen & Gibson (1978) e Dreyfus et al., (1988) demonstraram que em meio de cultura *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium* comportam-se microaerofilicamente para fixar N_2 , isto é, só toleram níveis de oxigênio muito baixos. Nas leguminosas, a leg-hemoglobina confere uma cor avermelhada ao interior dos nódulos efetivos. Nódulos sem leg-hemoglobina, portanto, são brancos e não fixam nitrogênio. Já nas simbioses com *Frankia*, os nódulos podem ter o interior branco, mas isso não significa ausência de hemoglobina como se verá em itens posteriores.

9.3. Genes relacionados à FBN

Desde sua primeira descrição em *Klebsiella pneumoniae* (Cannon et al., 1980; Dixon et al., 1980), genes *nif*, relacionados à fixação de nitrogênio, já foram identificados em várias espécies de diazotróficos associativos (e.g. *Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*), endofíticos obrigatórios (e.g. *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum* spp.), além de espécies de vida livre (e.g. *Rhodobacter capsulatus*), e simbióticas como cianobactérias (e.g. *Nostoc*), *Frankia* e bactérias que nodulam leguminosas. Os *nif* são genes requeridos para a estrutura, biossíntese e regulação da nitrogenase e, portanto, encontrados em todos os diazotróficos (i.e. de vida livre, associativos, simbióticos, etc). Já os genes *fix* são encontrados, em adição aos *nif* em bactérias simbióticas. No entanto, genes homólogos a alguns *fix* também estão presentes em bactérias que não fixam nitrogênio (Dixon & Kahn, 2004) e podem ser encontrados em bactérias fixadoras associativas, como *Azospirillum brasilense* (Sperotto et al., 2004). Os genes *nod*, requeridos para a nodulação, só são encontrados em bactérias diazotróficas formadoras de nódulos, como as do gênero *Frankia*, e as que formam simbiose com leguminosas e *Parasponia* spp., que também possuem outros genes que serão abordados nos tópicos respectivos a esses grupos. Os sistemas regulatórios que controlam a fixação de nitrogênio em diferentes diazotróficos variam tanto em relação às proteínas regulatórias chave como à rede de interações entre os diversos elementos envolvidos (Dixon & Kahn, 2004). A **figura 9.4** exemplifica o funcionamento de genes *nif* em *K. pneumoniae*, em cujo genoma já foram identificados, pelo menos, 23 desses genes. Aqueles para a síntese da nitrogenase são K, D e H e os genes Q, B, V, N e E codificam para produtos envolvidos na biossíntese do co-fator Fe-Mo da nitrogenase. Produtos dos genes *nif* F e J servem para o

transporte de elétrons de modo a sintetizar as oxirredutases flavodoxina e flavodoxina piruvato. O produto do gene A é o ativador de transcrição de todos os outros óperons, com exceção do *nif* L, que, por sua vez, codifica para a transcrição do repressor que inativa o gene *nif* A na presença de oxigênio ou nitrogênio combinado.

A filogenia de alguns genes *nif* não se correlaciona com aquela das espécies (geralmente baseada nos genes ribossomais). A **figura 9.5** exemplifica esse fato para o gene *nif* H. Comparando-se esse dendrograma com o da **figura 9.6**, cujas distâncias filogenéticas são baseadas nos genes ribossomais, verifica-se, por exemplo, que as cianobactérias estão no mesmo grupo das proteobactérias com relação à similaridade dos genes *nif* H; no entanto, com relação aos genes ribossomais ocupam grupos distintos. Três hipóteses são apresentadas para essa ausência de correlação. A primeira é que o caráter fixação de nitrogênio atmosférico teve origens múltiplas. A segunda é que o caráter estava presente num ancestral, comum a todas as espécies, mas foi perdido várias vezes durante o processo evolutivo que deu origem a diferentes ramos filogenéticos. A terceira é que o caráter teve uma única origem, mas se estendeu a outros ramos filogenéticos por transferência lateral; nesse caso, a transferência de plasmídeos (fragmentos de DNA extracromossômicos) entre diferentes espécies, gêneros e famílias de bactérias tem diversos exemplos na literatura. As três hipóteses encontram exemplos significativos na literatura, principalmente tratando-se de procaríotos.

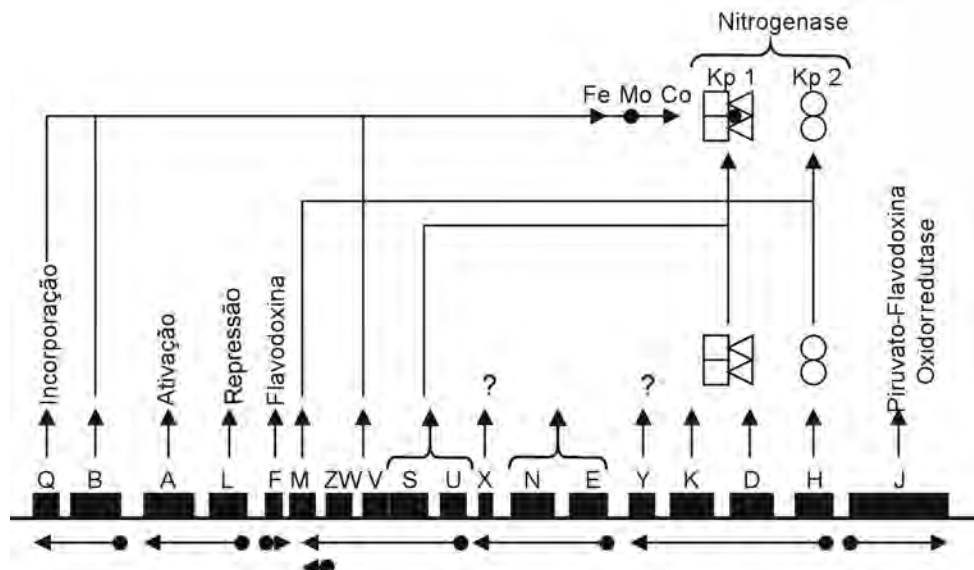


Figura 9.4. Organização dos genes *nif* em *Klebsiella pneumoniae*. Setas horizontais indicam a direção da transcrição. Setas verticais indicam a função dos genes. (Baseado em Cannon et al., 1985 e Merrick, 1988.)

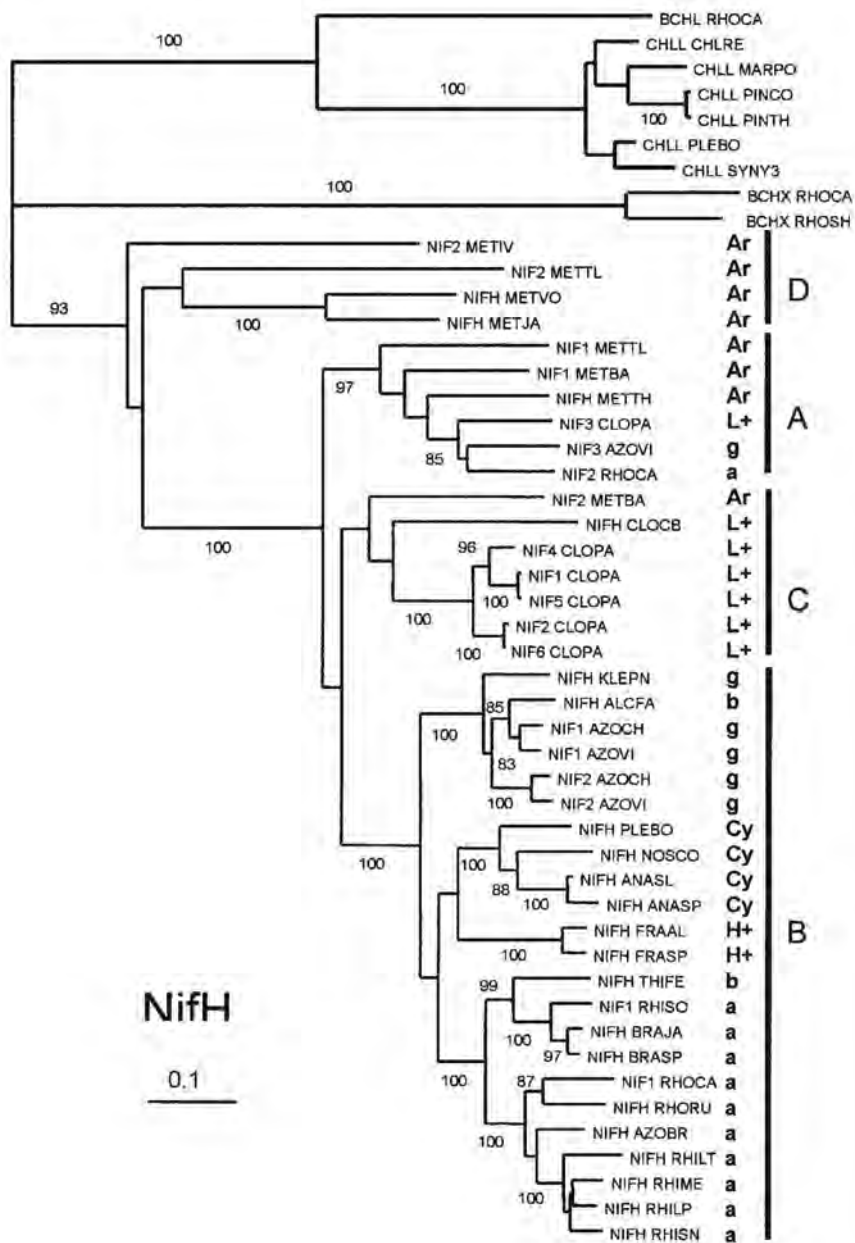


Figura 9.5. Filogenia do gene *nifH* estimada pelo método Neighbor-Joining a partir de seqüências de proteína na base de dados "Swiss-Prot". Seqüências são identificadas por seus nomes (geralmente 3 caracteres do nome do gênero e 2 da espécie, exceto RHIZO (= *Azorhizobium caulinodans*) e RHISN (= *Rhizobium* NGR234). Grupos taxonômicos: Ar = Archae; a, b, g: proteobactéria (alfa, beta e gama); L+, H+: Gram-positivos com baixo (L) e alta (H) % C+G; Cy: Cianobacteria. A, B, C e D são os 4 grupos principais. (Young, 2000.)

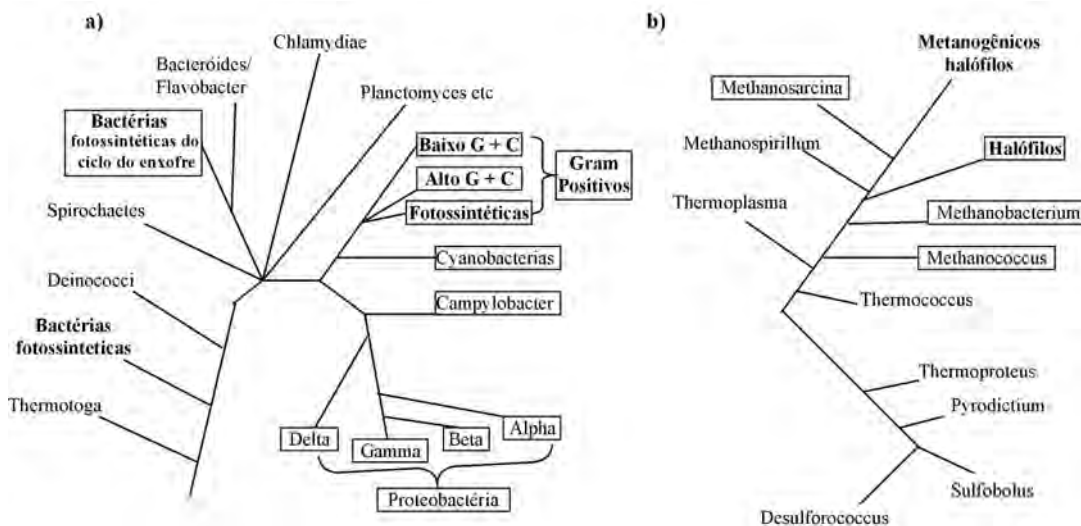


Figura 9.6. Filogenia de Eubacteria (A) e Archaeobacteria (B). Grupos com bactérias fixadoras de nitrogênio se encontram dentro das caixas (Young, 1992). Verificar na tabela 9.3A que novos Filos surgiram desde então.

Os projetos de genoma têm ampliado, expressivamente, o conhecimento dos genes relacionados à FBN, tanto em microrganismos como em plantas. Dos 286 genomas de Bacteria e 26 de Archaea, atualmente existentes na base de dados do NCBI (acessado 8 de março de 2006), estão incluídas várias espécies fixadoras de nitrogênio, entre as quais se destacam *Azoarcus* sp. EbN1, *Nostoc* sp. PCC 7120, *Frankia* sp. Cel3, *Bradyrhizobium japonicum* USDA 110, *Rhizobium etli* CFN42, *Sinorhizobium meliloti* 1021 e *Mesorhizobium loti* MAFF303099. Essa última espécie, cujo genoma foi o primeiro a ser publicado (Kaneko et al., 2000) e liberado no banco de dados (início de 2001), entre as citadas, tem um cromossomo de 7.036.071 pares de bases (pb) e dois plasmídeos de 351.911 e 208.315 pb respectivamente. O cromossomo compreende 6.752 genes com potencial para codificar proteínas. Desses com potencial, 54% apresentam similaridade a genes de função conhecida, 21% a genes hipotéticos e 25% não apresentam similaridade a genes já relatados. Em uma região de 611.000 pb no cromossomo, possivelmente uma “ilha simbiótica”, foram identificados 30 genes para fixação de nitrogênio e 24 para nodulação. Nos genomas dos dois plasmídeos apenas um gene para nodulação foi identificado. Por sua vez, o genoma de *Sinorhizobium meliloti* 1021, é composto por um cromossomo com 3.654.000 pb e dois megaplasmídeos: de 1.354.000 pb (pSymA - onde se localizam quase todos os genes de fixação de nitrogênio e nodulação) e 1.683.000 pb (pSymB) (Galibert et al., 2001). Comparações entre genomas dessas e de outras espécies de rizóbio revelaram que os genes e as regiões envolvidas na simbiose e fixação de nitrogênio exibem uma surpreendente diversidade em sua organização. Implementada e consolidada a era dos genomas, as etapas seguintes referem-se à consolidação dos transcriptomas, proteomas e metabolomas, pois, conhecer a expressão dos genes e como e

onde as proteínas codificadas pelos genes são expressas, é fundamental para o conhecimento de suas funções nesse e em outros processos biológicos.

Os avanços genéticos dessa área, nos últimos anos, são muitos e extrapolariam bastante o número de páginas deste livro. Nos tópicos seguintes, são apresentados apenas alguns exemplos expressivos desses avanços na microbiologia do solo. Portanto, recomenda-se ao leitor interessado em aprofundar o assunto, a consulta em *sites* de busca como WebScience, Scopus e Pubmed, além de bancos de dados como o NCBI, entre outros.

9.4. Diversidade e ocorrência dos organismos fixadores de nitrogênio

A fixação biológica de N_2 é mediada por uma parcela dos procariotos que, apesar de relativamente pequena, apresenta alta diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética. O capítulo sobre bactérias fixadoras de nitrogênio da segunda edição do "The Prokaryotes" (Eady, 1991) compila resultados de diversos autores e mostra a existência de 40 gêneros entre as bactérias heterotróficas, 24 entre as fototróficas anoxigênicas, 6 em Archaeobacteria e 37 entre as cianobactérias. Apesar de tais números já estarem desatualizados, em virtude do grande número de espécies e gêneros, descobertos desde então com o auxílio do avanço das técnicas da biologia molecular, eles demonstram a imensa diversidade dos fixadores de nitrogênio. As **tabelas 9.3A e B**, atualizadas e reformuladas a partir da lista encontrada em The Prokaryotes (1991), ampliam ainda mais essa diversidade, uma vez que não só novas espécies, mas, também, novos filos foram adicionados. Além disso, várias espécies tiveram sua nomenclatura e classificação modificadas. Fixadores de nitrogênio podem ser encontrados entre os aeróbios, anaeróbios e anaeróbios facultativos e em vários grupos filogenéticos representativos de Bacteria e de Archaea. Por exemplo, nas Proteobacterias, encontram-se espécies em todas as classes. Já *Frankia* é uma bactéria gram-positiva com alta porcentagem de G + C em seu DNA, característica indicativa do filo das actinobactérias (actinomicetos). Algumas espécies de *Bacillus* e *Clostridium*, gram-positivos com baixa porcentagem de C + G no DNA (Firmicutes), são, também, fixadores de nitrogênio. Parte das espécies de *Bacillus* foi renomeada como *Paenebacillus*. Entre as Archaea, fixadores estão presentes entre os halófilos e os metanogênicos. Entre os metilotróficos, celulolíticos e bactérias envolvidas no ciclo do enxofre e até denitrificadores (ver capítulo 2), que mediam justamente o processo inverso, também se encontram fixadores de N_2 . O grupo das bactérias que nodulam leguminosas – que será abordado com detalhes neste capítulo – também foi muito ampliado e ilustra bastante as transformações taxonômicas ocorridas desde 1991. A alta diversidade dos diazotróficos garante não só a resiliência do importante processo que mediam em determinado ecossistema como, também, sua ocorrência nos mais diferentes tipos de habitats terrestres.

A maioria das espécies de fixadores de N_2 é de vida livre, ocorrendo em todos os tipos de solo, na rizosfera e filósfera de plantas, em águas doces e salgadas e no trato intestinal de certos animais, como os cupins. Alguns fixadores de N_2 são encontrados em simbiose com fungos, diatomáceas e/ou com várias espécies vegetais, enquanto outros estabelecem relações menos especializadas com plantas denominadas, de modo geral, de associações. Alguns autores também chamam tais associações de "simbioses primitivas".

460 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.3A. Classificação de bactérias diazotróficas (atualizada e reformulada a partir da compilação feita por Eady, 1991).

Domínio/Filo/Família/ Gênero	Espécie
Archaea	
Methanococcaceae	
<i>Methanococcus</i>	<i>voltae</i> ^{*,***} , <i>aeolicus</i> ^{*,***} , <i>vannielii</i> ^{*,***} , <i>maripaludis</i>
<i>Methanothermococcus</i> (syn. <i>Methanococcus</i>)	<i>thermolithotrophicus</i> [*]
Methanobacteriaceae	
<i>Methanobacterium</i>	<i>ivanovii</i> [*] , <i>formicum</i> [*]
<i>Methanothermobacter</i> (syn. <i>Methanobacterium</i>)	<i>thermoautotrophicus</i> [*] (syn. <i>thermoautotrophicum</i>)
Methanothermaceae	
<i>Methanothermus</i>	<i>fervidus</i> ^{*,***}
Methanosarcinales	
<i>Methanosarcina</i>	<i>barkeri</i> 227 [*] , <i>barkeri fusaro</i>
<i>Methanolobus</i>	<i>tindarius</i>
Halobacteriaceae	
<i>Halobacterium</i>	<i>salinarum</i> (syn. <i>haloblum</i>) ^{***}
Bacteria	
Actinobacteria	
Frankiaceae	
<i>Frankia</i>	<i>alni</i> ^{*,**}
Firmicutes	
Paenibacillaceae	
<i>Paenibacillus</i> (syn. <i>Bacillus</i>)	<i>macerans</i> , <i>polymyxa</i> , <i>durus</i> (syn. <i>azotofixans</i>), <i>brasiliensis</i>
Clostridiaceae	
<i>Clostridium</i>	<i>pasteurianum</i> [*] , <i>butyricum</i> , <i>kluveri</i> , <i>acetobutylicum</i> , <i>beijerinckii</i> , <i>aceticum</i> , <i>felsineum</i> , <i>papyrosolvens</i> , <i>formicaceticum</i> , <i>cellobioparum</i>
Acidaminococcaceae	
<i>Propionispira</i>	<i>arboris</i>
Heliobacteriaceae	
<i>Heliobacterium</i>	<i>chlorum</i>
Peptococcaceae	
<i>Desulfotomaculum</i>	<i>ruminis</i> , <i>nigrificans</i>
<i>Desulfosporosinus</i> (syn. <i>Desulfotomaculum</i>)	<i>orientis</i>
Proteobacteria	
Alfa-Proteobacteria	
Acetobacteraceae	

Continua...

...Continuação

Domínio/Filo/Família/ Gênero	Espécie
<i>Rhodopila</i>	<i>globiformis</i>
<i>Gluconacetobacter</i> (syn. <i>Acetobacter</i>)	<i>diazotrophicus</i> , <i>azotocaptans</i> , <i>johanna</i>
Beijerinckiaceae	
<i>Beijerinckia</i>	<i>indica</i> , <i>mobilis</i> , <i>luminensis</i> , <i>derxii</i>
Bradyrhizobiaceae	
<i>Rhodopseudomonas</i>	<i>palustris</i>
<i>Rhodoblastus</i> (syn. <i>Rhodopseudomonas</i>)	<i>acidophilus</i> (syn. <i>acidophila</i>)
Bruceaceae	
<i>Mycoplana</i>	<i>dimorpha</i> , <i>bullata</i>
Methylocystaceae	
<i>Methylocystis</i>	<i>parvus</i> *
<i>Methylosinus</i>	<i>trichosporium</i> *, <i>sporium</i> *
Sphingomonadaceae	
<i>Sphingomonas</i> (syn. <i>Pseudomonas</i>)	<i>trueperi</i> (syn. <i>azotocolligans</i>), <i>paucimobilis</i>
Xanthobacteraceae	
<i>Xanthobacter</i>	<i>autotrophicus</i> , <i>flavus</i> , sp. H 4-14*, <i>agilis</i>
<i>Ancylobacter</i> (syn. <i>Microcycclus</i>)	<i>aquaticus</i>
Hyphomicrobiaceae	
<i>Blastochloris</i>	<i>viridis</i> , <i>sulforidis</i>
<i>Rhodomicrobium</i>	<i>vanniellii</i>
Rhodobacteraceae	
<i>Rhodobacter</i>	<i>spharoides</i> , <i>capsulatus</i> ***, <i>veldkampii</i>
<i>Rhodovulum</i> (syn. <i>Rhodobacter</i>)	<i>adriaticum</i>
<i>Rhodothalassium</i> (syn. <i>Rhodospirillum</i>)	<i>saalexigens</i> ,
Rhodospirillaceae	
<i>Rhodospirillum</i>	<i>rubrum</i> *, <i>photometricum</i>
<i>Azospirillum</i>	<i>lipoferum</i> *, <i>brasiliense</i> ***, <i>amazonense</i> , <i>halopraeferens</i> , <i>irakense</i> , <i>doebereineriae</i> , <i>largimobile</i> , <i>oryzae</i>
<i>Phaeospirillum</i> (syn. <i>Rhodospirillum</i>)	<i>fulvum</i> , <i>mollischianum</i>
Rhodobiaceae	
<i>Rhodobium</i>	<i>marinum</i>
Beta-Proteobacteria	
Alcaligenaceae	
<i>Alcaligenes</i>	<i>faecalis</i> *
<i>Azohydromonas</i> (syn. <i>Alcaligenes</i>)	<i>lata</i>
<i>Derxia</i>	<i>gummosa</i>
Burkholderiaceae	
<i>Burkholderia</i>	<i>vietnamiensis</i> , <i>kururiensis</i> , <i>tropica</i> , <i>unamae</i>

Continua...

462 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

...Continuação

Domínio/Filo/Família/ Gênero	Espécie
Comamonadaceae	
<i>Hydrogenophaga</i> (syn. <i>Pseudomonas</i>)	<i>pseudofilava</i> ^{***}
<i>Pelotomonas</i> (syn. <i>Pseudomonas</i>)	<i>saccharophila</i>
<i>Variovorax</i> (syn. <i>Alcaligenes</i>)	<i>paradoxus</i>
Rhodocyclaceae	
<i>Rhodocyclus</i>	<i>tenuis</i>
<i>Azoarcus</i>	<i>communis</i> , <i>indigens</i>
Oxalobacteraceae	
<i>Herbaspirillum</i>	<i>seropedicae</i> [*] , <i>rubrisubalbicans</i> , <i>frisingense</i> , <i>lusitanum</i>
Não classificadas	
<i>Rubrivivax</i> (syn. <i>Rhodocyclus</i>)	<i>gelatinosus</i>
Gama-Proteobacteria	
Acidithiobacillaceae	
<i>Acidithiobacillus</i> (syn. <i>Thiobacillus</i>)	<i>ferrooxidans</i>
Enterobacteriaceae	
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i> , <i>aerogenes</i> , <i>radicincitans</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i> , <i>intermedius</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i> ^{*,**} , <i>aerogenes</i> , <i>planticola</i> , <i>oxytoca</i> , <i>variicola</i>
<i>Pantoea</i> (syn. <i>Erwinia</i> , <i>Enterobacter</i>)	<i>agglomerans</i> ^{***} (syn. <i>herbicola</i>)
<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>
Methylococcaceae	
<i>Methylococcus</i>	<i>capsulatus</i> [*] , <i>thermophilus</i>
<i>Methylobacter</i>	<i>capsulatus</i> [*] , <i>luteus</i>
<i>Methylomonas</i>	<i>methanica</i> ^{***} , <i>rubra</i>
Pseudomonadaceae	
<i>Pseudomonas</i>	<i>stutzeri</i> , <i>st 4B</i> [*] , <i>azotolifigens</i>
Grupo de <i>Azotobacter</i>	
<i>Azotobacter</i>	<i>chroococcum</i> ^{**} , <i>beijerinckii</i> , <i>vinelandii</i> ^{**} , <i>salinestris</i>
<i>Azomonas</i>	<i>agilis</i> , <i>macrocytogenes</i>
<i>Azorhizophilus</i> (syn. <i>Azotobacter</i>)	<i>paspali</i>
Thiotrichaceae	
<i>Beggiatoa</i>	<i>alba</i>
Vibrionaceae	
<i>Vibrio</i>	<i>diazotrophicus</i> , <i>natriegens</i> , <i>cincinnatiensis</i>
<i>Listonella</i>	<i>pelagia</i>
Chromatiaceae	
<i>Alochromatium</i> (syn. <i>Chromatium</i>)	<i>vinosum</i> , <i>minutissimum</i> , <i>warmingii</i>
<i>Marichromatium</i> (syn. <i>Chromatium</i>)	<i>gracile</i>

Continua...

...Conclusão

Domínio/Filo/Família/ Gênero	Espécie
Ectothiorhodospiraceae	
<i>Ectothiorhodospira</i>	<i>shaposhnikovii</i> (syn. <i>vacuolata</i>)
<i>Thiocystis</i> (syn. <i>Chromatium</i>)	<i>minor</i> , <i>violacea</i>
<i>Thiocapsa</i>	<i>rosea</i> , <i>roseopersicina</i>
<i>Thiococcus</i> (syn. <i>Thiocapsa</i>)	<i>pfennigii</i>
Delta-Proteobacteria	
Desulfovibrionaceae	
<i>Desulfovibrio</i>	<i>desulfuricans</i> [*] , <i>vulgaris</i> [*] , <i>gigas</i> [*] , <i>saalexigens</i> [*] , <i>africanus</i> [*] ,
Desulfomicrobiaceae	
<i>Desulfomicrobium</i> (syn. <i>Desulfovibrio</i>)	<i>baculatum</i> (syn. <i>baculatus</i>)
Desulfobacteraceae	
<i>Desulfobacter</i>	<i>postgatei</i> , <i>hydrogenophilus</i> , <i>latus</i> , <i>curvatus</i>
Epsilon Proteobacteria	
Campylobacteraceae	
<i>Arcobacter</i> (syn. <i>Campylobacter</i>)	<i>nitrofigilis</i>
Thermodesulfobacteria	
Thermodesulfobacteriaceae	
<i>Thermodesulfobacterium</i> (syn. <i>Desulfovibrio</i>)	<i>thermophilum</i>
Chlorobi	
Chlorobiaceae	
<i>Chlorobium</i>	<i>limicola</i> , <i>phaeobacteriodes</i>
<i>Chloroherpeton</i>	<i>thalassium</i>
<i>Pelodictyon</i>	<i>luteolum</i>
<i>Prosthecochloris</i>	<i>aestuarii</i> , <i>vibriiformis</i>
Chloroflexi	
Chloroflexaceae	
<i>Chloroflexus</i>	<i>aurantiacus</i>

* Indica que genes estruturais nif foram seqüenciados ou que hibridização de DNA com DNA de nif H foi observada;

** Indica que gene nif A foi seqüenciado ou hibridização de DNA foi observada;

*** Crescimento diazotrófico não foi relatado para essa espécie.

Obs.: Outros gêneros e espécies se encontram listados na Tabela 9.20.

464 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.3B. Divisões e características de cianobactérias diazotróficas com respectivos gêneros.

Divisão: Características	Gênero ou Espécie
I. Chroococcales: Unicelulares dividindo-se por fissão binária ou brotamento;	<i>Cyanothece</i> *
	<i>Gloeocapsa</i>
	<i>Gloeotheca</i> *
	<i>Synechococcus</i> *
	<i>Synechocystis</i>
II. Pleurocapsales: Unicelulares dividindo-se por fissão múltipla;	<i>Chroococcidiopsis</i>
	<i>Dermocarpa</i>
	<i>Myxosarcina</i>
	<i>Pleurocapsa</i>
	<i>Xenococcus</i>
III. Oscillatoriales: Filamentosas não heterocísticas;	Grupo LPP
	<i>Lyngbya</i>
	<i>Microcoleus chthonoplastes</i>
	<i>Phormidium</i>
	<i>Plectonema</i> *
	<i>Pseudanabaena</i> *
	<i>Oscillatoria</i>
	<i>Spirulina</i>
<i>Trichodesmium</i> *	
IV. Nostocales: Filamentosas heterocísticas dividindo-se somente em um plano:	<i>Anabaena</i> *
	<i>Anabaenopsis</i>
	<i>Aphanizomenon</i>
	<i>Calothrix</i> *
	<i>Cyanospira</i>
	<i>Cylindrospermum</i>
	<i>Nodularia</i>
	<i>Nostoc</i> *
	<i>Richella</i>
	<i>Scytonema</i>
	<i>Tolypothrix</i>
V. Stigonematales: Filamentosas heterocísticas dividindo-se em mais de um plano:	<i>Fischerella</i> *
	<i>Hapalosiphon</i>
	<i>Mastigocladus</i>
	<i>Stigonema</i>
	<i>Westiellopsis</i>

* Indica que genes estruturais nif foram sequenciados ou hibridização DNA com nif H foi observada.

Cianobactérias diazotróficas, representadas por alguns gêneros, estabelecem relações simbióticas com algumas espécies representativas de todos os outros Reinos, refletindo a versatilidade desse grupo assim como sua afinidade genética com outros. No entanto, nenhuma espécie de cianobactéria fixadora de N_2 induz à formação de estruturas denominadas "nódulos" que ocorrem nas simbioses de espécies vegetais, pertencentes a 8 famílias, com actinomicetos do gênero *Frankia* e nas simbioses de leguminosas e *Parasponia* spp. com várias espécies de bactérias. As espécies vegetais que estabelecem simbiose com diazotróficos formando nódulos estão restritas a famílias pertencentes a 4 ordens componentes de um dos dois subclados (sub-grupo) das Eurosídeas I no clado das Rosídeas, nas Angiospermas (**Figura 9.7**). De acordo com essa nova classificação filogenética das 45 ordens de Angiospermas (APG II, 2003) (baseada principalmente nos genes: ribossomal 18S rDNA, cloroplástico *rbcL* – codificando a maior subunidade da ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase e *atpD*, as famílias que possuem espécies em simbiose com *Frankia* são classificadas nas ordens: Fagales (Casuarinaceae, Betulaceae, Myricaceae), Cucurbitales (Coriariaceae, Datisceae) e Rosales (Rosaceae, Rhamnaceae, Eleagnaceae). Em Rosales também se encontra a família Ulmaceae, cujo gênero *Parasponia* estabelece simbiose com gênero de bactérias que também nodulam a família Leguminosae (Fabaceae), classificada na ordem Fabales. Ressalta-se que, nessas ordens, ocorrem outras famílias que não estabelecem simbiose com diazotróficos. Do mesmo modo, nas famílias e gêneros contendo espécies nodulíferas podem ocorrer, respectivamente, gêneros e espécies de plantas não nodulíferas, indicando que nas eurosídeas I algum fator permite, mas, não implica necessariamente a capacidade de nodular. Já, genes e processos que contribuem para o desenvolvimento de nódulos foram recrutados de genes e processos comuns para a maioria (ou talvez todas) das plantas superiores que não formam nódulos (Gualtieri & Bisseling, 2000). Os projetos de genoma de espécies vegetais, deverão esclarecer quais características genéticas distinguem as plantas nodulíferas (i.e., do subclado das Eurosídeas I) das espécies vegetais não nodulíferas.

A importância das bactérias fixadoras de N_2 , de modo geral, é relevante tanto no aspecto ecológico como no econômico (agrícola e florestal). A contribuição da FBN para organismos não fixadores de N_2 é mais eficiente quando interações mais íntimas são estabelecidas, como as associações e simbioses que serão abordadas nos próximos tópicos.

9.5. Associações de fixadores de N_2 com espécies vegetais

Algumas espécies fixadoras de N_2 podem, além de colonizar abundantemente a rizosfera, ocorrer endofiticamente, ou seja, invadir o córtex e colonizar tecidos internos em diversas espécies vegetais. Embora também possam ser encontradas em dicotiledôneas, os resultados demonstram que essa ocorrência é mais generalizada em gramíneas e outras monocotiledôneas, como palmeiras e Orchidaceae (**Tabela 9.4**). Espécies mais comumente encontradas são: *Azospirillum* spp. (*A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. doebereineriae*, *A. oryzae*), *Azotobacter paspali* (renomeado *Azorhizophilus paspali*), *Paenebacillus* spp. (*P. azotofixans*, *P. brasilensis*), *Azoarcus indigenus*, *A. communis*, *Acetobacter diazotrophicus* (renomeado *Gluconacetobacter diazotrophicus*), *G. johannae*, *G. azotocaptans*, *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*, *H. frisingense*, *H. lusitanum*, *H. putei*, *H. huttense*, *H. autotrophicum* e *Burkholderia* spp. (*B. vietnamiensis*, *B. kururiensis*, *B. tropica*).

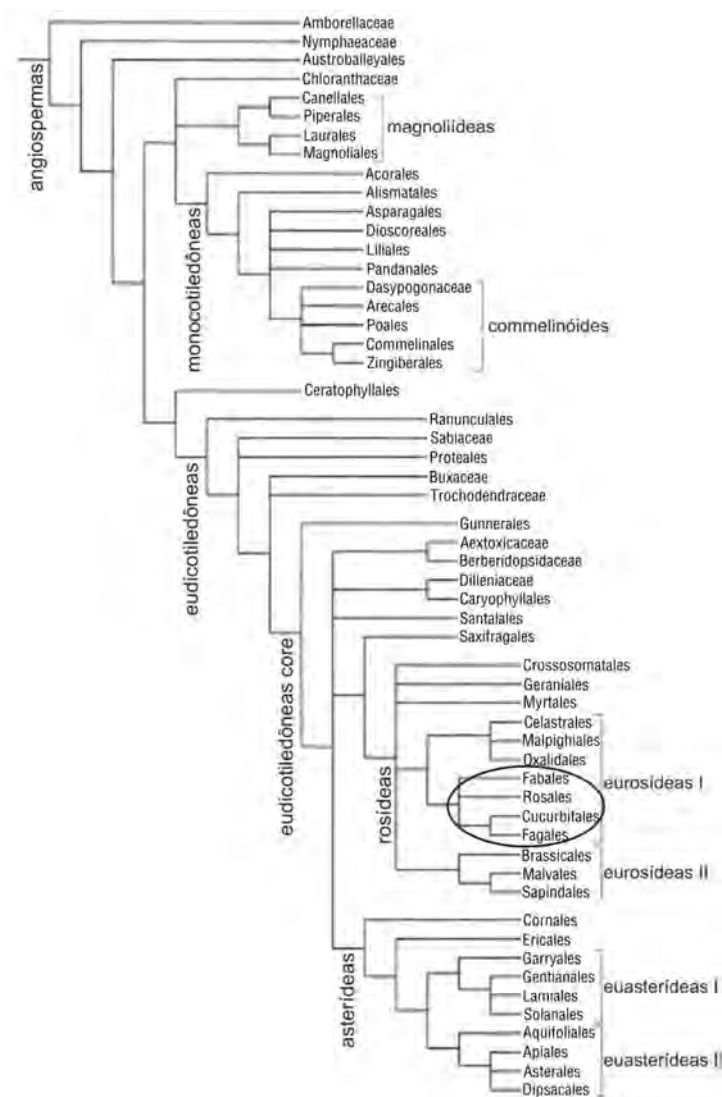


Figura 9.7. Inter-relações das ordens e de algumas famílias suportadas por frequências "bootstrap" ou "jackknife" acima de 50% em uma análise de angiospermas em grande escala. Todos, exceto cinco, dos clados são suportados pela análise de Soltis et al. (2000) com base em seqüências do 18 S rDNA, *rbcl* e *atpB* de uma grande amostra de angiospermas. Três clados, Canellales + Piperales, Laurales+Magnoliales e, essas quatro ordens juntas, são suportadas pela análise de várias seqüências gênicas diferentes de angiospermas filogeneticamente basais. Um clado, ou seja, todo o "core" das eudicotiledôneas, exceto Gunnerales, é suportado pela análise de seqüências de *rbcl* de uma grande amostra de eudicotiledôneas. Outro clado, que é o das asterídeas, exceto Cornales, é suportado por uma análise de seis marcadores moleculares de grande amostra de asterídeas. As famílias de rosídeas e asterídeas que não são classificadas em ordens não são mostradas. (APG II, 2003.) A elipse indica o subclado onde ocorrem espécies vegetais capazes de formar simbioses com bactérias fixadoras de N_2 nodulíferas.

Tabela 9.4. Ocorrência de diazotróficos associativos na rizosfera de espécies vegetais.

Espécie de diazotrófico	Espécie vegetal (Referência)
<i>Azotobacter chroococcum</i>	Coqueiro, ficus, milho, mangaueira, eucaliptos, leguminosas, gramíneas, laranjeiras, pinheiros e outras espécies não identificadas (Döbereiner, 1953)
<i>Azorhizophilus</i> (syn. <i>Azotobacter</i>) <i>paspali</i>	<i>Paspalum notatum</i> (Döbereiner, 1966)
<i>Azospirillum brasiliense</i> / <i>A. lipoferum</i>	Milho, arroz, sorgo, trigo, cevada, <i>Miscanthus sinensis</i> , <i>Panicum maximum</i> , <i>Brachiaria mutica</i> , <i>Pennisetum purpureum</i> (Döbereiner & Pedrosa, 1987)
<i>A. amazonense</i>	<i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Digitaria</i> sp., <i>Azonusus</i> sp., <i>Panicum pilosum</i> , <i>Paspalum virgatum</i> , <i>Manihot utilisima</i> , <i>Digitaria decumbens</i> , <i>Hyparrhenia rufa</i> , <i>Pennisetum purpureum</i> (Magalhães et al., 1983); <i>Eichornia crassipes</i> , <i>Echinochloa polistachya</i> , <i>Leptochloa scabra</i> , <i>Panicum bolivienense</i> , <i>Paspalum repens</i> , <i>Sorghum arundinaceum</i> , <i>Brachiaria humidicola</i> , <i>Bactris gasipaes</i> (pupunha) (Magalhães & Döbereiner, 1984); orquídeas (várias espécies), tomate, trigo, milho, couve, cana de açúcar, dendê, <i>Paspalum notatum</i> , <i>Bambusa vulgaris</i> (bambu), <i>Coffea arabica</i> , <i>Brachiaria decumbens</i> , <i>Pennisetum purpureum</i> , <i>Eucalyptus grandis</i> , (Lange & Moreira, 2002); milho, sorgo, arroz (Baldani, 1984)
<i>A. halopraeferans</i>	<i>Leptochloa fusca</i> (Reinhold et al., 1987)
<i>A. irakense</i>	Arroz (Khammas et al., 1989)
<i>A. doebereineriae</i>	<i>Miscanthus</i> spp. (Eckert et al., 2001)
<i>A. oryzae</i>	Arroz (Xie et al., 2005)
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Arroz (You et al., 1988)
<i>Azoarcus indigens</i> , <i>A. communis</i>	<i>Leptochloa fusca</i> (Reinhold et al., 1993)
<i>Paenibacillus durus</i> (syn. <i>Bacillus azotofixans</i>)	Gramíneas (Seldin et al., 1984, 1985)
<i>Bacillus</i> spp.	Trigo (Neal & Larson, 1976); gramíneas (Heulin, 1992)
<i>Paenibacillus brasiliensis</i>	Milho (von der Weid et al., 2002)
<i>Beijerinckia fluminensis</i>	Milho, cana de açúcar, <i>Citrus</i> sp., seringueira (Döbereiner & Ruschel, 1958)

Continua...

... Conclusão

Espécie de diazotrófico

Espécie vegetal (Referência)

<i>Beijerinckia</i> spp.	Cana-de-açúcar (Döbereiner, 1961; Ruschel, 1975); <i>Bactris gasipaes</i> (Magalhães & Döbereiner, 1984)
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	Arroz (Gillis et al., 1995)
<i>Burkholderia kururuiensis</i> (syn. <i>B. brasiliensis</i>)	Arroz, mandioca, batata-doce e cana-de-açúcar (Baldani et al., 1997); banana, abacaxi (Cruz et al., 2001)
<i>Burkholderia tropica</i> (syn. <i>B. tropicalis</i>)	Cana-de-açúcar, milho, teosinto (Reis et al., 2004); banana, abacaxi (Cruz et al., 2001)
<i>Burkholderia unamae</i>	Milho, cana de açúcar, café (Caballero-Mellado et al., 2004)
<i>Arcobacter</i> (syn. <i>Campylobacter</i>) <i>nitrofigis</i>	<i>Oriza perenne</i> , <i>Spartina alterniflora</i> (McClung & Patriquin, 1980; McClung et al., 1983)
<i>Derxia</i> spp.	Espécies de: gramíneas, Cyperaceae, Onagraceae, Compositae e Leguminosae (Campelo & Döbereiner, 1970); <i>Oriza perenne</i> (Magalhães, 1981)
<i>Enterobacter</i> spp. (agglomerans, cloacae, aerogenes)	Gramíneas, trigo, cevada, arroz (Korhonen et al., 1989); coqueiro (Fernandes et al., 2001)
<i>Gluconacetobacter</i> (syn. <i>Acetobacter</i>) <i>diazotrophicus</i>	Cana de açúcar (Cavalcanti & Döbereiner, 1988); abacaxi (Tapia-Hernandez et al., 2000)
<i>Gluconacetobacter johannae</i> , <i>G. azotocaptans</i>	Batata doce (<i>Ipomoea batatas</i>) (Paula et al. 1991)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	<i>Coffea arabica</i> (café) (Fuentes-Ramirez et al., 2001)
<i>Herbaspirillum</i> (syn. <i>Pseudomonas</i>) <i>rubrisubalbicans</i>	Arroz, sorgo, milho (Baldani et al., 1986); sorgo, cana-de-açúcar, <i>Pennisetum purpureum</i> , <i>Brachiaria decumbens</i> , <i>Digitaria decumbens</i> , <i>Melinis multiflora</i> (Baldani et al., 1992)
<i>Herbaspirillum frisingense</i>	Banana (Cruz et al., 2001)
<i>Klebsiella</i> spp. (<i>K. planticola</i> , <i>K. oxytoca</i>)	Cana de açúcar (Baldani et al., 1992); banana, abacaxi (Cruz et al., 2001)
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Spartina pectinata</i> , <i>Miscanthus</i> spp., <i>Pennisetum purpureum</i> (Kirchhof et al., 2001)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Arroz (You et al., 1986)
	Arroz (Barraquio et al., 1983; Watanabe et al., 1987); coqueiro (Fernandes et al., 2001)
	Coqueiro (Fernandes et al., 2001)

Outros gêneros encontrados pertencem às Enterobacteriaceae, como *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pantoea* e *Serratia*. Espécies dos gêneros *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azoarcus* e *Burkholderia* são consideradas obrigatoriamente ou predominantemente endofíticas, uma vez que sua ocorrência é praticamente restrita aos tecidos internos vegetais. O gênero *Burkholderia* foi descrito para transferir 7 espécies de *Pseudomonas* por Yabuuchi et al. (1992) e, desde então, espécies desse gênero têm sido encontradas com frequência em amostras de solo e de raízes de diversos locais (e.g. Estrada de los Santos et al., 2001), o que demonstra ser tão abundante na rizosfera de plantas como *Pseudomonas* spp. Algumas espécies de *Burkholderia* fixadoras de N₂ têm sido descritas como associativas, outras como simbióticas (ver itens posteriores), outras como severos patógenos humanos e/ou rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) (*B. cepacia*) e até endossimbióticas de fungos micorrízicos (Minerdi et al., 2001), revelando uma surpreendente diversidade fenotípica desse gênero na interação com plantas, animais e microrganismos. As relações genéticas e fenotípicas nesse grupo de espécies ainda estão sendo estudadas, mas já foi demonstrado que *B. cepacia* pode apresentar outras características específicas de RPCP, além da presença dos genes *nifA* e *nifHDK* (Tabacchioni et al., 1995; Peix et al., 2001). No entanto, seu uso agrícola deve ser considerado com cautela em vista de sua característica de patógeno humano.

Experimentos desenvolvidos pelo método de incorporação do ¹⁵N₂ confirmaram que várias gramíneas tropicais se beneficiam de nitrogênio fixado biologicamente (De-Polli, 1975; Ruschel, 1975; De-Polli et al., 1977). No entanto, o manejo desse processo em gramíneas depende, entre outros, da identificação das espécies que contribuem, significativamente, para o processo. Como elas não formam estruturas anatômicas diferenciadas (como os nódulos de leguminosas), sua localização e ocorrência na rizosfera e no interior dos tecidos vegetais são pesquisadas, colocando-se amostras de solo, rizosfera, raiz ou outro material vegetal em meios de cultura seletivos para cada espécie. As de espécies endofíticas (que ocorrem dentro dos tecidos) são pesquisadas, desinfestando-se, superficialmente, a amostra com produtos como Cloramina-T (C₇H₇ClNNaO₂S.3H₂O) ou água sanitária, entre outros. Frequentemente, mais de uma espécie e até mais de um gênero são encontrados na mesma espécie vegetal (Tabelas 9.4 e 9.5). Além disso, outras espécies, não detectadas pelos meios de cultivo atualmente utilizados, ou espécies não cultiváveis podem, também, estar ocorrendo. No entanto, alguns resultados mostraram correlação com a incidência de determinadas espécies e as demandas nutricionais da planta. Por exemplo, o número de células de *Azospirillum* spp. é constante no solo e na rizosfera (ecto + endorizosfera) de milho durante todo o ciclo da planta, porém quando as bactérias da ectorrizosfera são eliminadas, através da esterilização superficial das amostras de raízes com Cloramina-T, verifica-se que o número dessas bactérias na endorizosfera aumenta bastante na floração e, posteriormente, no enchimento de grãos, justamente quando a demanda de nitrogênio e de outros nutrientes pela planta é maior (Figura 9.8). Além disso, os números totais de *Azospirillum* spp. no interior das raízes se correlacionaram com o N acumulado em trigo (Baldani et al., 1983). Através do uso de sondas moleculares, Assmus et al. (1995) confirmaram a localização de *Azospirillum brasilense* no interior de raízes de plantas como o trigo.

Apesar de a pesquisa sobre fixadores de N₂ (diazotróficos) associativos no Brasil, ter-se iniciado na década de 50 por Döbereiner e colaboradores, com os gêneros *Azotobacter* e *Beijerinckia*, ela só foi intensificada a partir da descoberta de novas espécies de *Azospirillum* (Döbereiner, 1978), que coincidiu com a chamada “crise do petróleo”, despertando o interesse por alternativas biológicas aos fertilizantes

470 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.5. Ocorrência endofítica de bactérias aeróbias microaerofílicas em monocotiledôneas e plantas tuberosas (Döbereiner, 1992 com base em: Patriquin & Döbereiner, 1978; Magalhães et al., 1979; Baldani et al., 1986; Cavalcante & Döbereiner, 1988; Döbereiner et al., 1988; ; Reis & Döbereiner, 1991; Paula et al., 1992a e b).

Espécie vegetal	<i>A. diazotrophicus</i> *	<i>Herbaspirillum</i> spp. **	<i>Azospirillum</i> spp.
<u>Cana-de-açúcar</u>			
raízes	2	1	2
colmos	2	2	2
folhas	1	2	2
<u>Ervas daninhas ***</u>			
raízes	0	2	2
parte aérea	0	2	1
<u><i>Pennisetum purpureum</i></u>			
raízes	2	ND	2
colmos	2	ND	1
folhas	2	ND	ND
<u>Batata-doce</u>			
raízes e tubérculos	2	0	2
caules	2	0	0
<u>Milho e sorgo</u>			
raízes	0	2	2
colmos	0	2	2
Seiva do xilema	0	ND	1
sementes	0	ND	1
<u>Arroz</u>			
raízes	0	1	2
colmos	0	2	2
folhas	0	2	0
sementes	0	2	ND
<u>Trigo</u>			
raízes	0	0	2
colmos	0	0	1

* Atualmente classificada como *Gluconacetobacter diazotrophicus*

** *H. seropedicae*, *H. rubrisubalbicans*

*** Coletadas em campos de cana-de-açúcar; 0 = nunca encontrada, 1 = ocorrência ocasional, 2 = ocorrência freqüente em altos números, ND = nenhum dado disponível

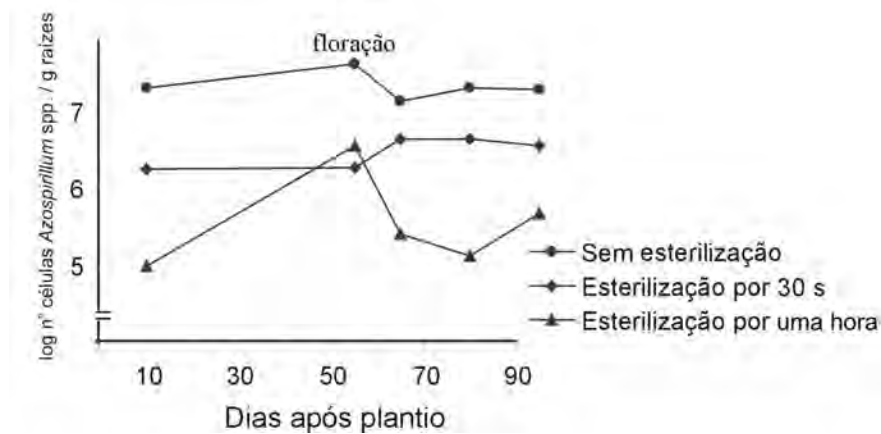


Figura 9.8. Ocorrência de *Azospirillum* spp. em raízes de milho no campo. (Magalhães et al., 1979.)

nitrogenados utilizados na agricultura. A partir de então, várias espécies novas têm sido descobertas e ensaios de inoculação de diazotróficos associativos em plantas têm sido realizados no Brasil e em outros países. Os resultados nem sempre são positivos, e se questiona se o número de resultados negativos ou sem efeito não estaria subestimado, uma vez que a tendência é não publicá-los (**Tabela 9.6**). Já, na maioria dos ensaios, usaram-se estirpes introduzidas e não homólogas (i.e. isoladas da mesma espécie vegetal onde foram inoculadas) que não passaram por um processo de seleção quanto a sua eficiência e adaptação às condições edáficas e climáticas dos ensaios, a exemplo do que se faz nas simbioses bactérias nodulíferas (e.g. rizóbio) em leguminosas, o que contribuiria para subestimar também, não só o número de resultados positivos como a magnitude do efeito encontrado. Além disso, a influência de variedades ou cultivares vegetais no potencial de FBN também foi verificada e deveria ser considerada (Bullock & Döbereiner, 1975; Lima et al, 1987). Estima-se que em 60 a 70% dos trabalhos realizados, obtiveram-se respostas positivas com maior frequência na faixa de 5 a 30% de aumento de produção (Okon & Labandera-Gonzalez, 1994), e geralmente em solos com baixa aplicação de insumos, principalmente níveis baixos de fertilizante nitrogenado. Resultados obtidos em experimentos realizados posteriormente apresentaram as mesmas tendências (Bashan et al., 2004).

De qualquer modo, deve-se admitir que eficiência similar à das simbioses de bactérias nodulíferas com leguminosas no solo não pode ser alcançada, uma vez que esta é resultante de um processo muito mais evoluído que minimiza perdas, do nitrogênio fixado, por interferência de fatores químicos, físicos e biológicos que interagem na complexidade, heterogeneidade e dinâmica do sistema edáfico. A eficiência da FBN pode ser calculada em termos de quantidade de N_2 fixado por grama de substrato consumido. Na **tabela 9.7**, pode-se verificar que eficiência de até $83 \text{ mg } N_2 \text{ g}^{-1}$ lactato em cultura pura já foi encontrada em *Azospirillum brasilense*. Bacteróides de rizóbio dentro de nódulos de ervilha têm eficiência elevada de $100 \text{ mg } N_2 \text{ g}^{-1}$ glicose, uma vez que estabelecido o nódulo, cessa seu crescimento e passa a fixar N_2 em fase estacionária, enquanto as outras espécies, por serem organismos em crescimento, têm que utilizar parte da energia metabólica na síntese de material celular. Por outro lado, no interior dos nódulos no solo, os bacteróides estão em íntima relação com a planta, relação essa que é modulada fisiológica, bioquímica e geneticamente, o que garante maior eficiência da simbiose.

472 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.6. Respostas na produção (em porcentagem de aumento ou diminuição) de diferentes espécies vegetais à inoculação com *Azospirillum* spp. no campo (Extraído de várias referências citadas pelas revisões de Boddey & Döbereiner, 1982, Sumner, 1990, Okon & Labandera-Gonzales, 1994).

Espécie vegetal	Bactéria	Respostas*
		%
<i>Pennisetum americanum</i>	<i>A. lipoferum</i>	0 – 29
	<i>A. brasilense</i>	-3 – 32
<i>Panicum maximum</i>	<i>A. lipoferum</i>	0 – 16
<i>Sorghum bicolor</i>	<i>A. brasilense</i>	
	<i>A. lipoferum</i>	0 – 370
<i>Zea mays</i>	<i>A. brasilense</i>	0 – 37
	<i>A. lipoferum</i>	0 – 154
<i>Setaria italica</i>	<i>A. brasilense</i>	
	<i>A. lipoferum</i>	21 – 58
<i>Panicum miliaceum</i>	<i>A. brasilense</i>	13
<i>Triticum aestivum</i>	<i>A. brasilense</i>	0 – 79
	<i>A. lipoferum</i>	0 – 64
	<i>A. amazonense</i>	37
<i>Oryza sativa</i>	<i>Azospirillum</i> sp.	5 – 15
	<i>A. lipoferum</i>	-32 – 99
<i>Vicia sativa</i>	<i>A. brasilense</i>	23
<i>Arachis hypogea</i>	<i>A. lipoferum</i>	24 – 25
<i>Pisum sativum</i>	<i>A. brasilense</i>	0

* Em relação ao tratamento não inoculado.

Tabela 9.7. Eficiência energética da fixação biológica de N₂ em diazotróficos associativos em culturas puras e rizóbio em simbiose.

Espécie	Eficiência	Referência
<i>Clostridium pasteurianum</i> (anaeróbio)	10 mg N ₂ /g glucose	Daesch & Mortenson, 1968
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (facultativo)	5 mg N ₂ /g glucose	Jensen, 1965
<i>Xanthobacter autotrophicus</i>	22 - 65 mg N ₂ /g glucose	Berndt et al., 1976
<i>Azotobacter</i> sp. (culturas aeradas)		Wilson, 1958
	10 - 20 mg N ₂ /g glucose	
pO ₂ reduzido	46,5 mg N ₂ /g glucose	Mulder & Brotonegoro, 1974
<i>Azospirillum brasilense</i> / <i>A. lipoferum</i> (pO ₂ reduzido)	24 - 29 mg N ₂ /g succinato ou malato	Okon et al., 1976 Neyra & Döbereiner, 1977
<i>A. lipoferum</i>	48 mg N ₂ /g glucose	Volpon et al., 1981
<i>A. brasilense</i>	83 mg N ₂ /g lactato	Pedrosa et al., 1981
Nódulos de ervilha	100 mg N ₂ /g glucose	Minchin & Pate, 1973

Já para as bactérias associativas, mesmo localizadas no interior das plantas, não há evidências de relação tão complexa, o que teoricamente contribui para diminuir a contribuição da FBN.

Cálculos da contribuição de N fixado para gramíneas estão em torno de 25 a 50 kg N ha⁻¹ ano⁻¹, o que equivale ao suprimento médio de cerca de 17% das demandas das culturas. Segundo dados do IBGE, dentre as seis culturas temporárias com maior produção em 2003, no Brasil, destacam-se quatro gramíneas: cana-de-açúcar (1^o lugar), milho (3^o lugar), arroz (5^o lugar) e trigo (6^o lugar), em área colhida com cerca de 24 milhões de hectares. Acrescente-se ainda a extensa área de pastagens (naturais e plantadas), que, segundo o censo agropecuário do IBGE, sobre a utilização das terras no Brasil, representava, em 1995/96, cerca de 180 milhões de hectares, equivalendo quase a mesma área englobando todos os outros tipos de uso da terra (lavouras permanentes e temporárias, lavouras em descanso, matas naturais e plantadas, terras produtivas não utilizadas). Considerando esses dados e que as espécies produtoras de grãos, como trigo, arroz e milho, entre outras, são a principal fonte de carboidrato da dieta humana e o alto potencial fotossintético das gramíneas C4 nos trópicos, essa taxa de FBN, mesmo baixa, representa uma grande economia nos custos de produção, o que justifica estudos visando a seu manejo. Adicionem-se a isso, os outros tipos de benefícios, além da FBN, que têm sido apresentados para tais bactérias, como RPCP (rizobactérias promotoras do crescimento de plantas).

Alguns trabalhos têm mostrado que os efeitos da inoculação de diazotróficos no crescimento vegetal podem ser também nutricionais, fisiológicos, morfológicos e de controle biológico de organismos maléficos. Os possíveis mecanismos causadores desses efeitos encontram-se na **tabela 9.8**. Além da FBN, destaca-se a produção de substâncias promotoras de crescimento vegetal, como fitormônios (auxinas, citocininas e giberelinas) e vitaminas, demonstrada para várias espécies. Um clássico experimento revela alguns destes efeitos na **tabela 9.9**. Outros trabalhos mostraram que a inoculação de *Azospirillum brasilense* em arroz inundado aumentou a eficiência da fertilização nitrogenada, o que também foi obtido com a inoculação de outras RPCP (bactérias solubilizadoras de fosfato e *Azotobacter chroococcum*) em banana (Urquiaga & Zapata, 2000). Okon & Labandera-Gonzalez (1994) assinalam que melhores resultados da inoculação são obtidos com concentrações de células na base de 1 X 10⁷ UFC por semente. Segundo Baldani & Baldani (2005), os estudos de inoculação com diazotróficos no Brasil têm mostrado que as bactérias endofíticas contribuem mais que as associativas.

A FBN em outra importante cultura para a economia nacional – a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) – já foi comprovada por estudos envolvendo diferentes técnicas utilizando o isótopo marcado ¹⁵N e revela um quadro mais promissor. Estudos recentes envolvendo balanço de N e diluição isotópica mostraram que algumas variedades de cana-de-açúcar brasileiras como a CB 47-89, os híbridos comerciais CB 45-3 e SP70-1143, e *S. spontaneum* cultivar Krakatau, são capazes de obter, pelo menos, 60% de suas demandas nutricionais de N através da FBN, o que corresponde a 164 kg N por hectare (Lima et al., 1987; Urquiaga et al., 1992). Oliveira et al. (2002) demonstraram através da técnica de diluição isotópica do ¹⁵N, que a contribuição de cerca de 30% no nitrogênio total acumulado em plantas micropropagadas de cana-de-açúcar cv SP70-1143, inoculadas com estirpes de cinco espécies diferentes em diferentes combinações, eram devidas à FBN. Esses resultados corroboram observações anteriores de que certas variedades cultivadas de cana-de-açúcar não respondiam à adubação nitrogenada, como as exemplificadas na **tabela 9.10**.

474 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.8. Possíveis mecanismos do efeito da inoculação com *Azospirillum* (Modificado de Okon et al., 1988).

- A.** Efeitos sobre as raízes causados pela colonização de um número crítico de sítios sobre as raízes por um número crítico de células de *Azospirillum*:
- Aumento da densidade e comprimento dos pêlos radiculares e da taxa de aparecimento de raízes laterais e superfície radicular.
- B.** Contribuição da FBN:
- Picos de atividade (ARA) e número de células endofíticas na floração.
 - Quantidades pequenas de N incorporadas (estudos com $^{15}\text{N}_2$).
 - Possível enriquecimento do solo com N-combinado.
 - Importante no balanço de N dos ecossistemas a longo prazo.
 - Interações benéficas com outros microrganismos incluindo fixadores de N_2 .
- C.** Produção de substâncias promotoras de crescimento pela bactéria:
- Produção por *Azospirillum* em cultura.
 - Não foi demonstrado em associação com plantas.
 - Pode-se aumentar o desenvolvimento radicular.
- D.** Produção de substâncias promotoras de crescimento pela planta:
- Componentes da superfície de *Azospirillum* ou enzimas pécticas provocam respostas das plantas.
 - Resultados mostram mudanças morfológicas nas células radiculares.
 - Diminui atividade de enzimas oxidativas (AIA oxidase).
 - Aumenta AIA endógeno.
 - Resultados mostram aumento de absorção de água e elementos minerais, desenvolvimento radicular, crescimento vegetativo e produção das culturas.
- E.** Interações na rizosfera com microrganismos maléficos (biocontrole).
- Relação antagonista (competição, amensalismo).
 - Deslocamento.
 - Competição por nutrientes.

Tabela 9.9. Efeito de hormônios de crescimento e inoculação com *Azospirillum brasiliense*, estirpe Sp 131 SR 2, no crescimento de milho (Tien et al., 1979).

Tratamentos	Concentração	Peso da raiz ^a	Peso da parte aérea ^a
	mg/L	mg	mg
Controle		161 a	694 b
AIA	0,01	200 a	990 a
AG ₃	0,05	168 a	832 ab
Cinetina	0,001	181 a	923 a
AIA + AG ₃ + Cinetina	0,01+0,05+0,001	155 a	822 ab
Inoculado		211 a	1017 a

^a Valores nas colunas seguidos da mesma letra não diferem significativamente a 0,05 de probabilidade.

Tabela 9.10. Produtividade de variedades de cana-de-açúcar em resposta à adubação nitrogenada (Silveira et al., 1980).

Variedade	N aplicado (kg/ha)		
	0	50	100
	-----Mg/ha-----		
CB 41-76	88	73	92
CB 40-13	72	99	83
NA 56-62	97	91	86
CO 475	83	89	70
IAC 52-326	100	95	107
CP 51-22	95	81	97
CB 46-47	64	63	67
CB 42-355	91	83	86
CB 53-98	100	84	99

ANOVA Variedade **, Trat N n.s., Variedade X N n.s.

CV 19%, DMS (5%) = 26

Apesar de outros diazotróficos associativos já terem sido detectados e isolados de cana-de-açúcar (Döbereiner & Ruschel, 1958; Döbereiner, 1959; Purchase, 1980; Gracioli et al., 1983; Seldin et al., 1984; Baldani et al., 1997; Boddey et al., 1998), algumas evidências sugerem que a espécie *Acetobacter diazotrophicus* (Cavalcanti & Döbereiner, 1988; Gillis et al., 1989) possa ser a principal responsável pela FBN na cana-de-açúcar. Essa espécie, como já mencionado, recentemente reclassificada como *Gluconacetobacter diazotrophicus*, é obrigatoriamente endofítica, e ocorre em números elevados, principalmente em cana e outras espécies vegetais com altas concentrações de açúcar, como batata-doce e *Pennisetum purpureum* (Tabela 9.5), e tolera em meio de cultura concentrações altas de sacarose, ou seja, um ambiente similar ao que ocorre no interior dos tecidos desses vegetais. Além disso, é extremamente tolerante à acidez, podendo crescer em pH de 3,0. Também foi demonstrada sua habilidade de excretar N fixado, que foi utilizado por uma levedura em cultura mista (Cojho et al., 1993). No entanto, as principais espécies responsáveis pela FBN em cana-de-açúcar ainda não estão identificadas, enquanto estimativas da contribuição da FBN em variedades de cana-de-açúcar variam, dependendo das condições experimentais (Boddey et al., 2003), demonstrando que as relações ecológicas que interferem na magnitude desse processo ainda precisam ser elucidadas. Um dos fatores ambientais que influenciam a FBN nas associações é o nitrogênio disponível no solo, seja como adubo, seja na forma combinada resultante de altos teores de matéria orgânica. A superior contribuição da FBN nessa gramínea têm sido atribuída a um peculiar aspecto de seu histórico de manejo: o melhoramento conduzido em solos com baixos teores de nitrogênio e com pouca fertilização nitrogenada. Similarmente, no México, as variedades de milho com maior potencial de FBN são as variedades crioulas que não passaram por melhoramento genético empregando altas doses de fertilizantes (Caballero-Melado & Aguirre, 2004). O México, centro de origem do milho, é hoje um dos raros países que produzem e utilizam, com sucesso, inoculantes com diazotróficos associativos para essa e outras culturas, como trigo e sorgo,

476 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

demonstrando ótimas perspectivas de utilização em ampla escala dessa biotecnologia. Os resultados obtidos até o momento indicam que a pesquisa visando a uma inoculação mais eficiente deve ser integrada ao manejo de fatores relacionados com a espécie vegetal e com o solo, assim como ocorre com as simbioses de diazotróficos com leguminosas.

9.6. Simbioses de cianobactérias com fungos, diatomáceas e plantas

Cianobactérias formam simbiose com diatomáceas, fungos e plantas (**Tabela 9.11**). Todos os gêneros de cianobactérias que formam simbiose com outros organismos são filamentosas heterocísticas (Figura 9.3). Como mencionado, os heterocistos são células especializadas que protegem a nitrogenase do oxigênio e o sítio da fixação biológica de nitrogênio.

As simbioses com diatomáceas em sistemas aquáticos marinhos ou de água doce, onde estes organismos são abundantes, desempenham um papel fundamental no ciclo do nitrogênio desses ecossistemas, uma vez que quantidades significativas desse elemento são incorporadas. A simbiose de fungos e cianobactérias, formando líquens, é particularmente importante nos estádios iniciais de pedogênese e na colonização de ambientes inóspitos como pedras, troncos de árvores, etc.

Tabela 9.11. Simbiose das cianobactérias com plantas, fungos e diatomáceas.

Filo e gênero do simbionte	Gênero das cianobactérias	Localização	N ₂ fixado kg ha ⁻¹ ano ⁻¹
Diatomacea (plantônicas marinhas)			
<i>Rhizosolenia</i>			
<i>Hemiaulus</i>	<i>Rhichelia</i>		3
Fungos (e.g. <i>Geosiphon</i>)			
	<i>Calothrix</i>		
	<i>Nostoc</i>	Talo	
	<i>Scytonema</i>	(intercelular)	1 - 10
Briófitas			
<i>Phaeoceros</i>			
<i>Anthoceros</i>			
<i>Blasia</i>		Talo	
<i>Cavicularia</i>	<i>Nostoc</i>	(intercelular)	1 - 10
Pteridófitas			
<i>Azolla</i>	<i>Anabaena (Nostoc?)</i>	Cavidade nas folhas (intercelular)	10 - 100
Gimnospermas			
<i>Macrozamia</i>		Raízes diferenciadas	
<i>Cicadaceae</i>	<i>Nostoc</i>	(inter e intracelular)	20
Angiospermas			
<i>Gunnera</i>	<i>Nostoc</i>	Glândulas axilares (intracelular)	10 - 70

Tem-se sugerido que o microssimbionte de *Azolla* pertence ao gênero *Nostoc* e, não, à *Anabaena*, como sempre foi relatado (Plasinski et al., 1990). Isto ressalta a versatilidade do gênero *Nostoc* para formar simbiose com organismos de dois Reinos: Fungi e Plantae e, dentro deste último, com espécies de diferentes ramos filogenéticos. Nas simbioses com Cicadaceae, verificou-se que as estruturas onde as cianobactérias se alojam não eram nódulos, como sempre se considerava, mas, sim, raízes diferenciadas de forma coralóide com geotropismo negativo, o que limita a formação de nódulos às simbioses de bactérias com leguminosas e de *Frankia*, que serão abordadas posteriormente. Dentre as simbioses de cianobactérias, a de espécies de pteridófitas aquáticas do gênero *Azolla* com *Nostoc/Anabaena* destaca-se em termos de importância agrícola. Nessa simbiose, o microssimbionte está localizado na cavidade foliar do vegetal (**Figura 9.9**) e a troca de N_2 fixado por fotossintatos, entre a cianobactéria e a planta, é realizada através de pêlos de transferência. São conhecidas seis espécies de *Azolla*: *A. filiculoides*, *A. caroliniana*, *A. microphylla*, *A. mexicana*, *A. pinata* e *A. nilotica* e, até o momento, uma espécie do microssimbionte: *Anabaena(Nostoc?) azollae*. Todas as espécies de *Azolla* têm crescimento rápido e alto teor de nitrogênio (4 a 5%). Produções de biomassa contendo 100 kg ha^{-1} de N foram obtidas apenas em 37 dias de cultivo (**Tabela 9.12**). Em vários países asiáticos, é comum o seu uso como adubação verde ou consorciada com arroz irrigado; além disso, ela pode ser usada como adubo para outras culturas e na alimentação de peixes, aves e suínos. Ensaios realizados pela EMBRAPA, na Amazônia ocidental, nos anos 80, mostraram que um hectare de *Azolla* pode produzir 9 toneladas de proteína bruta por ano, o que equivaleria a 50 hectares de pasto e capineiras, e poderia reduzir o avanço do desmatamento com fins de produção animal. Outra utilização de *Azolla* é no controle de plantas invasoras, como *Cyperus* spp. e *Polygonum* spp. mediante a competição da luz.

Na prática de adubação verde, *Azolla* é cultivada antes e/ou depois do plantio da outra espécie a ser adubada, geralmente arroz. São recomendados 4 a 6 cultivos de *Azolla* seguidos de drenagem e incorporação da biomassa ($2 \text{ a } 5 \text{ t ha}^{-1}$). Sua decomposição é rápida e, a sua eficiência, comparável a 60 kg N ha^{-1} na forma de adubo nitrogenado (**Tabela 9.13**). Em consórcio, é utilizado um inóculo fresco de $0,02 \text{ a } 0,75 \text{ kg de } Azolla \text{ m}^{-2}$ (Nierzwicki-Bauer, 1990), dependendo das condições ambientais e edáficas. A biomassa de *Azolla* pode dobrar, aproximadamente em 5 a 7 dias; considerando que a área coberta cresce exponencialmente, pode-se calcular o inóculo inicial para cobertura de determinada área.

Os fatores limitantes a tal simbiose são os seguintes:

- a) umidade – por ser uma planta aquática, a faixa ótima está entre 85 e 90% e, a crítica, <60%;
- b) luminosidade e temperatura – *Azolla* spp. ocorrem em climas temperados e tropicais, variando as faixas ótimas com a espécie;
- c) salinidade – a planta é sensível a níveis altos de salinidade na água;
- d) nutrientes – a simbiose tem alto requerimento de P, e Mo também é necessário; ao contrário de outras simbioses, o N mineral tem pouco efeito nessa.
- e) pH – a faixa ótima está em torno de 4,5 a 7,0;

478 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

f) turbulência – *Azolla* spp. não toleram turbulência da água; seu crescimento é mais estimulado em águas paradas;

g) fungos e insetos – atacam a planta, principalmente nas estações quentes e úmidas, podendo, então, ser necessária a aplicação de fungicidas e inseticidas.

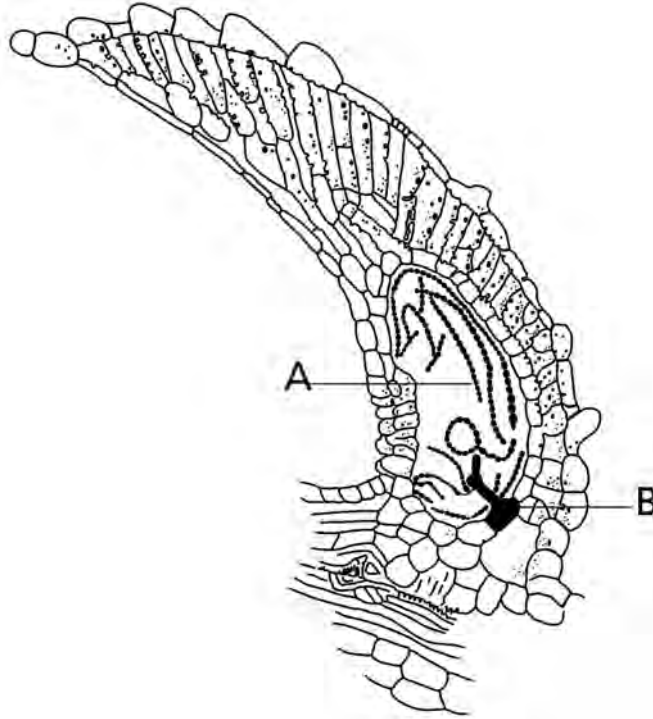


Figura 9.9. Corte transversal do lóbulo superior da folha de *Azolla*: A) filamentos de *Anabaena*; B) Pêlo de transferência entre cianobactéria e pteridófita.

Tabela 9.12. Nitrogênio e produção de biomassa por quatro espécies de *Azolla*.

Espécie	Condição	MS	Teor N	Idade	Fix N
		kg/ha	kg/ha	dias	kg ha ⁻¹ dia ⁻¹
<i>A. filiculoides</i>	Arroz inundado (vaso)	5,2	128	50	2,5
<i>A. mexicana</i>	Arroz inundado (campo)	1,1	40	40	1,0
<i>A. pinnata</i>	Fitotron*	2,2	100	37	2,6
<i>A. caroliniana</i>	Casa-de-vegetação	3,2	146	41	3,6

* Câmara de crescimento com ambiente controlado

Tabela 9.13. Efeito de *Azolla* na produção de arroz. ⁽¹⁾

Tratamento	Produção de grãos	
	1979	1980
	Mg/ha	
Sem N	2,6 (100)**	3,2 (100)
30 kg N/ha - uréia	3,2 (122)	3,8 (123)
60 kg N/ha - uréia	3,7 (141)	4,2 (139)
<i>Azolla</i> antes do plantio (transplântio)	3,2 (122)	4,0 (123)
<i>Azolla</i> depois do plantio incorporada	3,1 (118)	3,9 (123)
<i>Azolla</i> depois do plantio não incorporada	3,1 (118)	4,0 (123)
30 kg N + <i>Azolla</i> antes do plantio	3,7 (143)	4,4 (140)
30 kg N + <i>Azolla</i> depois do transplântio	3,5 (134)	4,4 (140)
<i>Azolla</i> antes e depois do transplântio	3,6 (139)	4,2 (137)

⁽¹⁾ Conduzido pelo International Network of Soil Fertility and Fertility Evaluation for Rice (IRRI) (5 países), em 13 e 19 locais, respectivamente, em 1979 e 1980. ** Entre parêntesis produção em porcentagem, em relação a testemunha sem nitrogênio mineral, considerando essa 100%.

9.7. Simbioses actinorrízicas

Actinomicetos do gênero *Frankia* podem estabelecer simbioses radiculares com formação de nódulos em plantas de 8 famílias pertencentes a 3 ordens. Até 1982, eram conhecidas 175 espécies de 17 gêneros hospedeiros. Pesquisas realizadas nos últimos anos ampliaram o conhecimento de tal simbiose para 279 espécies de 25 gêneros (**Tabela 9.14**) distribuídas em todos os continentes, demonstrando o potencial para descoberta de novas espécies actinorrízicas. Nódulos caulinares induzidos por *Frankia* foram descobertos em *Casuarina* spp. Diferenças entre essa simbiose caulinar e a nodulação caulinar induzida por *Azorhizobium caulinodans*, em *Sesbania rostrata*, incluem, entre outros, a presença de cloroplastos e falta de proteção em nicho específico na segunda (**Tabela 9.15**).

As espécies actinorrízicas compreendem desde arbustos muito pequenos, com cerca de 10 cm de altura (*Dryas drummondii*), até arbustos maiores (*Ceanothus* spp., *Colletia* spp.) e árvores (*Alnus* spp., *Casuarina* spp.). Sua distribuição é ampla: há espécies nativas da África, de regiões desérticas e frias da América do Sul e da América do Norte, de regiões de clima temperado (ao sul e ao norte), podendo habitar altitudes elevadas nos trópicos e subtropicais. De modo geral, são colonizadoras agressivas de áreas inóspitas e sítios pobres em nitrogênio, como o indicado por suas regiões de ocorrência. Muitas espécies, porém, podem ser introduzidas com sucesso em outras regiões, como é o caso de *Casuarina* spp. no Brasil. Das famílias relatadas com simbiose actinorrízica (Tabela 9.14), apenas a Rosaceae e a Rhamnaceae são representadas por vários gêneros nativos no Brasil (Souza & Lorenzi, 2005). No entanto, dentre esses, apenas os gêneros *Colletia* e *Discaria*, nas Rhamnaceae, são relatados como actinorrízicos (Tabela 9.14). As espécies do gênero *Colubrina*, nas Rhamnaceae, que ocorrem no Brasil, deveriam ser revistas, uma vez que Cruz- Cisneros & Valdez (1991) encontraram uma espécie desse gênero como sinônimo de *Ceanothus* sp.

480 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.14. Distribuição geográfica dos gêneros de plantas actinorrizicas e concentração de hemoglobina nos nódulos de alguns gêneros (Newcomb, 1981; Tjepkema & Asa, 1987; Silvester et al., 1990; Baker & Mullin, 1992; Pathirana & Tjepkema, 1995; Huss-Dannell, 1997).

Gênero	Família	Número de espécies noduladas	Distribuição geográfica principal *	Concentração de Hemoglobina [Hb] ou de hemoglobina CO-reativa[Corh] **
<i>Adolphia</i> ***	Rhamnaceae	1	AmN	
<i>Allocasuarina</i>	Casuarinaceae	58	Aust	
<i>Alnus</i>	Betulaceae	42	AmN, AmS, Eur, NAs, SAs	[Corh] muito baixa
<i>Casuarina</i>	Casuarinaceae	18	Aust, SAs, NAf, AmN, AmS	[Hb] alta como em leguminosas
<i>Ceanothus</i>	Rhamnaceae	30	AmN	[Corh] muito baixa
<i>Cercocarpus</i>	Rosaceae	4	AmN	
<i>Ceuthostoma</i>	Casuarinaceae	2	Aust	
<i>Chamaebatia</i>	Rosaceae	1	AmN	
<i>Collatia</i>	Rhamnaceae	3	Eur, NAf, AmS	
<i>Comptonia</i>	Myricaceae	1	AmN	[Corh] muito baixa
<i>Coriaria</i>	Coriariaceae	16	Aust, AmN, AmS, Eur	[Corh] baixa
<i>Cowania</i>	Rosaceae	1	AmN	
<i>Datisca</i>	Datiscaceae	2	AmN, Sas	Nenhuma [Corh]
<i>Discaria</i>	Rhamnaceae	5	AmS, Eur	
<i>Dryas</i>	Rosaceae	3	AmN, Eur	Interior dos nódulos Cor creme
<i>Elaeagnus</i>	Elaeagnaceae	35	Nas, AmN, Eur, SAs	[Corh] baixa
<i>Gymnostoma</i>	Casuarinaceae	18	Aust	
<i>Hippophae</i>	Elaeagnaceae	2	Eur, Nas	[Corh] baixa
<i>Kentrothamnus</i>	Rhamnaceae	1	AmS	
<i>Myrica</i>	Myricaceae	28	SAf, AmN, AmS, Aust, SAs, Nas	[Hb] alta como em leguminosas
<i>Purshia</i>	Rosaceae	2	AmN	
<i>Retanilla</i>	Rhamnaceae	1	AmS	
<i>Shepherdia</i>	Elaeagnaceae	2	AmN	
<i>Talguenea</i>	Rhamnaceae	1	AmS	
<i>Trevoa</i>	Rhamnaceae	2	Mas	
Total		279		

* AmN = América do Norte; AmS = América do Sul; Eur = Europa, Aust = Austrália e Oceania; NAf = Norte da África; SAf = Sul da África; NAs = Norte da Ásia; SAs = Sul da Ásia; ** Os termos "baixa" e "muito baixa" significam concentração de Corh nos nódulos, respectivamente: 1-5 e 10 vezes a concentração nas raízes.

****A. infesta* (syn.: *Ceanothus infestus*, *Collubrina infesta*)

Tabela 9.15. Comparação entre os nódulos caulinares de *Sesbania* e *Casuarina* (Prin et al., 1992).

Características	<i>Sesbania</i>	<i>Casuarina</i>
Agente infeccioso	<i>Azorhizobium</i>	<i>Frankia</i>
Morfologia e anatomia do nódulo	Leguminosa	Actinorrízico
Cloroplastos no nódulo	Presente	Ausente
Proteção	Ausente	Localizado em nicho específico - protuberância
Ciclo de vida	Anual	Anual, mas reformado a cada ano no sítio
Independência das limitações do solo	Comprovado	Provável

Apesar da ocorrência destes 2 gêneros actinorrízicos, não se detectou, até o momento, nenhuma espécie nativa em simbiose com *Frankia* no Brasil. Embora não haja simbioses actinorrízicas importantes na alimentação humana, sua adaptação a ambientes inóspitos torna-as úteis na estabilização de dunas, como barreiras contra o vento, e na revegetação de áreas degradadas. Além disso, várias espécies são produtoras de madeira, lenha, carvão e polpa para celulose, além de ornamentais. *Casuarina* e *Alnus* são os gêneros, de importância econômica mais estudados. Estimativas de FBN em espécies desses gêneros situam-se entre 40 e 300 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹ (Becking, 1973).

Comparando-se com as simbioses de rizóbio com leguminosas, observa-se que existem poucos resultados sobre as simbioses actinorrízicas. Um dos motivos é relacionado à dificuldade de isolamento do endófito. O primeiro isolamento de *Frankia* (Callahan et al., 1978) foi conseguido quase um século após o primeiro isolamento de rizóbio (Beijerinck, 1888) de nódulos de *Comptonia peregrina* (syn. *Myrica asplenifolia*). As principais limitações para o isolamento do endófito se devem à anatomia dos nódulos, que se originam do periciclo, o que dificulta a remoção de contaminantes endofíticos, pois o tecido vascular é interno aos tecidos colonizados (**Figura 9.10**), e à sua baixa taxa de crescimento em meios de cultivo considerados ainda não seletivos e que permitem o crescimento mais rápido de contaminantes. O crescimento de *Frankia* em placas com meio de cultura inoculado com nódulos desinfestados só se observa após mais de um mês de incubação, sendo necessárias repicagens sucessivas para meios líquidos para multiplicação dos isolados obtidos. Os nódulos de rizóbio têm tecido vascular externo, que permite a remoção dos contaminantes por desinfestação superficial, e a taxa de crescimento dessas bactérias é relativamente rápida em meio de cultura (geralmente 1 a 6 dias, exceto para *Bradyrhizobium* de crescimento lento, cujas colônias isoladas aparecem após 10 dias).

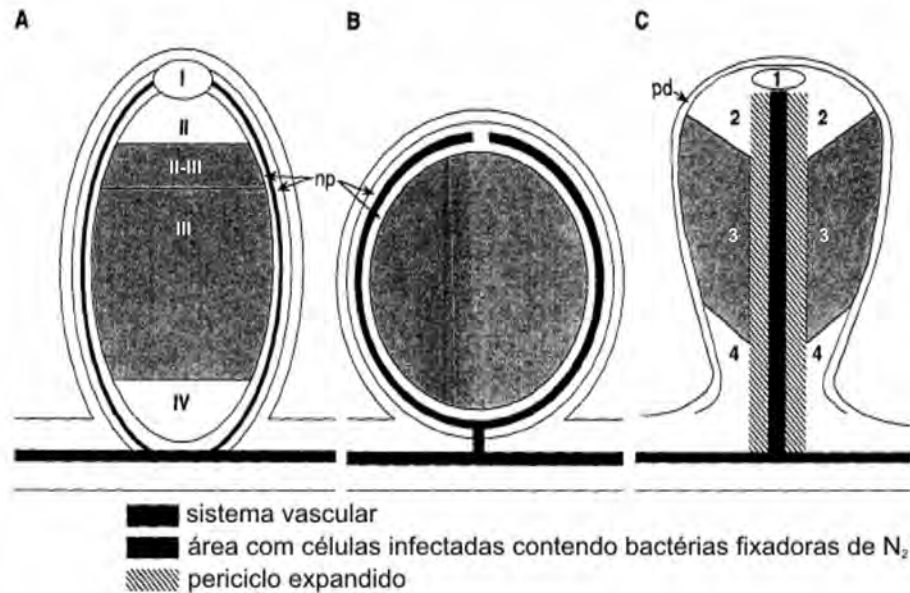


Figura 9.10. A: Nódulo indeterminado de leguminosas. O tecido central pode ser dividido em 5 zonas. Diretamente abaixo do meristema (I), na zona de pré-fixação (II), as células vegetais se tornam infectadas. As bactérias estão circundadas pelas membranas peribacteróides e começam a se diferenciar em suas formas simbióticas: os bacteróides. Na interzona (II-III), a fixação de nitrogênio inicia-se e sucede em toda zona de fixação de nitrogênio (III). Na zona de senescência (IV), as bactérias estão degradadas. A barreira de difusão ao oxigênio é formada pelo parênquima do nódulo (np). **B:** Nódulo determinado de leguminosas. Todas as células do tecido central estão mais ou menos no mesmo estágio de desenvolvimento. **C:** Lóbulo de um nódulo actinorrízico de *Alnus aglutinosa*. O lóbulo é circundado pela periderme (pd). Analogamente ao nódulo indeterminado de leguminosas, nesse podem se distinguir diferentes zonas no córtex. A zona (1) é formada pelo meristema. A (2) contém células que se tornam infectadas gradualmente, preenchendo-se de hifas de *Frankia* que, subseqüentemente, formam vesículas. Durante a diferenciação das vesículas, a expressão dos genes *nif* e a produção da nitrogenase são induzidas. O início da expressão dos genes *nif* caracteriza a mudança para a zona (3). Na zona de senescência (4), a fixação de nitrogênio cessou e o citoplasma vegetal e as bactérias estão degradados. (Extraído de Pawlowski & Bisseling, 1996, com base em Schwintzer et al., 1982, Vasse et al., 1990, Yang et al., 1991, e Ribeiro et al., 1995.)

Morfologia, taxonomia e diversidade de *Frankia*

Três estruturas morfológicas de *Frankia* podem ser encontradas no interior dos nódulos: filamentos de hifa, vesículas e esporângios contendo esporos (Mansour & Torrey, 1991), apresentando todos potencial de infecção em plantas. Esporângios podem ocorrer também em micélios externos aos nódulos (Cusato & Tortosa, 1993). Embora todas as estirpes testadas de *Frankia* possuam a capacidade de formar esporângios *in vitro*, no interior dos nódulos só se observaram esporos em 16 espécies de nove gêneros: *Alnus*,

Casuarina, *Ceanothus*, *Comptonia*, *Dryas*, *Eleagnus*, *Hyppophae*, *Myrica* e *Purshia* (Torrey, 1987). Assim, dois tipos distintos podem ser reconhecidos Sp+ (esporulantes no interior dos nódulos) e Sp- (não esporulantes), que parecem diferir em sua capacidade infectiva, na efetividade e competição para formação de nódulos (Kurdali et al., 1990). A formação de vesículas está associada à FBN, pois há evidências de que as vesículas são o sítio da nitrogenase, protegendo-a dos efeitos do O₂ (Meesters et al., 1987). Um envelope de lipídeos multilamelado envolvendo a vesícula forma uma barreira física ao O₂ (Parsons et al., 1987), permitindo condições para a atividade da nitrogenase. Vesículas ocorrem em simbioses com todos os gêneros, exceto nas simbioses de *Casuarina* e *Allocasuarina*. Embora *Frankia* em simbiose com *Casuarina* só produza hifas no interior de nódulos que fixam N₂ ativamente (Zhang & Torrey, 1985), isolados de *Casuarina* formaram vesículas *in vitro* e tiveram atividade da nitrogenase, podendo essas características ser simultaneamente inibidas por N combinado (Zhang et al., 1984; Zhongze et al., 1986). Como muitos nódulos actinorrízicos geralmente apresentam coloração interna branca, considerou-se, por muitos anos, que eles não contivessem hemoglobina. Posteriormente, confirmou-se a presença de hemoglobina em nódulos de *Casuarina* (Appleby et al., 1983; Tjepkema, 1984; Sellstedt et al., 1994). No entanto, a concentração de hemoglobina pode variar de muito baixa a bastante alta, como nos nódulos de leguminosas (Huss-Danell, 1997). Enquanto em leguminosas o microssimbionte e o hospedeiro envolvidos na simbiose têm influência marcante sobre essa característica, nas simbioses actinorrízicas a influência do gênero hospedeiro é determinante (Tabela 9.14).

A maioria das simbioses actinorrízicas estudadas apresenta atividade da hidrogenase que recicla o H₂ resultante da reação da FBN (Sellstedt et al., 1994). Atribuem-se três funções à atividade dessa enzima: proteger a nitrogenase do O₂, prevenir inibição da nitrogenase por H₂ e recapturar energia que poderia ser perdida como H₂, aumentando, assim, a eficiência do processo. Em nódulos de *Casuarina* que não apresentam vesículas, a atividade da hidrogenase é particularmente importante, conferindo proteção da nitrogenase contra o O₂ (Sellstedt & Winship, 1987). Encontraram-se valores altos de eficiência relativa da nitrogenase (0,81 a 1,00) em simbiose de *Casuarina* spp. com a estirpe HFPCcl3, dando suporte a essa hipótese. Já, *Casuarina* é um dos gêneros com alta concentração de hemoglobina nos nódulos, o que, comprovadamente, é um mecanismo de proteção à nitrogenase.

Nos últimos anos, apesar das dificuldades, muitas estirpes foram isoladas em culturas puras de hospedeiros dos gêneros *Comptonia*, *Alnus*, *Eleagnus*, *Casuarina*, *Ceanothus*, *Colletia*, *Discaria*, *Retanilla* e *Trevoa* (Caru, 1993). Todos esses isolados foram atribuídos ao gênero *Frankia*, com base em:

- a) características morfológicas, tais como: formação de esporângios e vesículas em culturas líquidas;
- b) composição química de certos constituintes celulares, como: parede celular do tipo III, fosfolipídeo tipo PI e presença de 2-O-metil-manose;
- c) habilidade de fixar N₂ e de nodular plantas (Lechevalier, 1984).

Existe uma razoável homogeneidade dentro de gêneros, enquanto, em categorias taxonômicas, inferiores observou-se um grau considerável de heterogeneidade (Lechevalier & Ruan, 1984). Métodos moleculares de análise do perfil de restrição do DNA genômico por endonucleases, determinação da composição de bases do DNA e homologia DNA/DNA, também demonstraram diversidade genética entre estirpes de *Frankia*, pois só se encontraram níveis baixos de homologia (Akkermans et al., 1991). Árvores filogenéticas baseadas em seqüenciamento parcial do 16S rDNA deram origem a três grupos

484 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

filogenéticos principais que apresentam alguma relação com os grupos de infecção detalhados no tópico seguinte. Tais análises também revelaram maior diversidade genética entre estirpes que nodulam *Alnus* do que entre as que nodulam *Casuarina* e *Elaeagnus* (Swensen & Mullin, 1997).

Relações simbióticas

Assim como nas simbioses de bactérias fixadoras de N₂ como leguminosas, a planta controla a simbiose que é modulada por vários fatores ambientais e edáficos assim como pela bactéria. Vários experimentos de inoculação em hospedeiros utilizaram suspensão de nódulos macerados como fonte de inóculo em vista das dificuldades para o isolamento de *Frankia* em cultura pura. Estudos comparando essa fonte de inóculo ao inóculo procedente de culturas puras mostraram diferenças significativas nas respostas obtidas (Gauthier et al., 1984; Mirza et al., 1994). Essas diferenças podem ser atribuídas à presença de mais de uma estirpe no nódulo, pela sua infecção múltipla, pois, embora a infecção de um único pêlo radicular seja necessária para formação do nódulo, geralmente a de vários pêlos radiculares, que podem ser por diferentes estirpes, leva à formação de um único nódulo. Dessa forma, estirpes em cultura pura oferecem resultados mais consistentes sobre suas propriedades simbióticas, embora os resultados até agora obtidos forneçam um quadro ainda confuso.

A existência de especificidade intergenérica na família Casuarinaceae já foi sugerida (Gauthier et al., 1984). Contudo, várias estirpes isoladas de *Casuarina* spp. não nodularam espécies do mesmo gênero (Zhang et al., 1984). A estirpe Eu11, isolada de *Elaeagnus umbellata*, também não nodula o hospedeiro de origem, mas nodula outras espécies de *Alnus*, *Myrica* e *Comptonia* (Baker et al., 1980). A estirpe ORS021001, isolada de *Casuarina junghuhniana*, não nodula espécies de gêneros da mesma família (*Allocasuarina* e *Gymnostoma*). Entretanto, várias estirpes isoladas de *Casuarina* nodulam membros de Elegendaceae, como *Hyppophae* e *Elaeagnus*, sugerindo-se, por isso, que membros dessa família sejam hospedeiros promíscuos (Zhang et al., 1984). No entanto, a estirpe AvC1, isolada de *Alnus*, não nodula espécies daquela família (Baker & Torrey, 1980). *Alnus* spp. e *Myrica* foram noduladas efetivamente pela mesma estirpe (Baker & Torrey, 1980; Huss-Danell, 1991). Baker (1987) testou o maior número de estirpes de *Frankia* (50) em cultura pura. Seus resultados, acrescidos aos de Torrey & Racette (1989), possibilitaram a divisão das estirpes em quatro grupos de especificidade hospedeira, a saber:

- a) estirpes que nodulam *Alnus*, *Comptonia*, *Myrica* e *Gymnostoma*;
- b) estirpes que nodulam *Casuarina*, *Gymnostoma*, algumas espécies de *Allocasuarina* e *Myrica*;
- c) estirpes que nodulam somente Elaegnaceae, *Myrica* e *Gymnostoma*;
- d) estirpes que nodulam só Elaegnaceae.

Entre os hospedeiros, *Myrica cerifera* e o gênero *Gymnostoma* apresentaram a maior promiscuidade simbiótica com *Frankia*. No entanto, resultados recentes, com base no gene *rbcl* e no espaço intergênico 18S-26S rDNA, com 13 espécies da família Myricaceae, considerada a mais antiga família actinorrízica, mostraram que algumas espécies de *Myrica* e o gênero *Comptonia* pertenciam a um grupo filogenético distinto de outras espécies de *Myrica* transferidas para outro gênero: *Morella*, segundo Huguet et al., 2005. Esses autores também mostraram que tais grupos eram nodulados por dois outros filogeneticamente

divergentes de *Frankia*: o grupo de estirpes infectivas em *Alnus* (*Myrica-Comptonia*) e o grupo infectivo em *Elaeagnaceae* (*Morella*), corroborando a existência de especificidade hospedeira.

Deve-se ressaltar que a falta de estirpes que nodulem espécies das famílias *Coriariaceae*, *Datisceae* e *Rosaceae*, e de resultados sobre um maior número de inoculações cruzadas entre isolados já obtidos e várias espécies de hospedeiros resulta num quadro ainda incompleto sobre as propriedades simbióticas de *Frankia*.

O genótipo da planta também pode influenciar o potencial da FBN. A porcentagem de N derivada da FBN variou de 14 a 76%, entre diferentes procedências de *Casuarina cunninghamiana*, e de 25 a 75% para *C. equisetifolia* (Sanginga et al., 1990). Em clones da mesma espécie de *Alnus*, obtidos a partir de culturas de tecidos, observou-se alta variação na FBN, excedendo os melhores clones 51% até 76% o crescimento de plântulas. Esses resultados indicam que podem obter-se ganhos genéticos a curto prazo através de melhoramento do hospedeiro. Além disso, a produção de biomassa de clones teve aumentos significativos de 25 a 33%, conseqüentes à inoculação com *Frankia* (Hendrickson et al., 1993).

Mesmo em áreas de distribuição natural, algumas espécies actinorrízicas podem não apresentar nodulação e, fora de sua área de distribuição, a ocorrência de nódulos é rara (Gauthier et al., 1984). Nesses casos, é necessária a inoculação com estirpes adequadas. Inóculos comerciais ainda não são disponíveis em vista dos problemas de isolamento e cultivo mencionados. Quando culturas puras não forem disponíveis, o melhor método é a inoculação de mudas com nódulos ativos macerados oriundos da mesma espécie. Diversos resultados têm mostrado efeito positivo da inoculação com *Frankia* no desenvolvimento de plantas, tanto via culturas puras como por nódulos macerados (Torrey, 1982; Weber et al., 1987).

9.8. Simbioses de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL)

As espécies de BFNNL têm sido denominadas, coletivamente, de rizóbio. O nome rizóbio originou-se da primeira espécie descrita – *Rhizobium leguminosarum* (Frank, 1879, 1889) – de onde também se derivou o nome da primeira família compreendendo, na época, todas as BFNNL conhecidas – *Rhizobiaceae* Conn 1938. No entanto, como veremos nos tópicos seguintes, a descoberta de novas espécies em outras famílias, além das *Rhizobiaceae*, e algumas das quais em outros Filos do Domínio Bacteria, tornou esse nome inapropriado para denominação geral das BFNNL. Por isso, adotaremos neste livro, a denominação de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas (BFNNL) ou bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas (BFNN).

9.8.1. Leguminosae: importância e papel nos ecossistemas

Dentre as simbioses de fixadores de N_2 com plantas, as de BFNN com leguminosas certamente se destacam por sua importância econômica, que está relacionada não só à ampla distribuição geográfica e utilização dos hospedeiros (**Tabela 9.16**) como, também, à maior eficiência do processo decorrente de uma parceria vegetal e microrganismo mais evoluída.

486 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.16. Exemplos de espécies de leguminosas nodulíferas em vários tipos de utilização econômica.

Utilização	Exemplos
Madeira	<i>Dalbergia nigra</i> <i>Cedrelinga catenaeformis</i> <i>Platymiscium duckei</i>
Forageira	<i>Pueraria phaseoloides</i> <i>Centrosema pubescens</i> <i>Lotus corniculatus</i>
Lenha	<i>Inga</i> spp. <i>Clitoria racemosa</i> <i>Acacia</i> spp.
Flora apícola	<i>Mimosa pudica</i> <i>Inga edulis</i>
Gomas	<i>Prosopis</i> spp. / <i>Sesbania bispinosa</i> <i>Astrogalus</i> spp. <i>Acacia senegal</i>
Adubação verde	<i>Canavalia ensiformis</i> <i>Cajanus cajan</i> <i>Stizolobium aterrimum</i>
Celulose e papel	<i>Stryphnodendron guianense</i>
Carvão	<i>Swartzia ulei</i> <i>S. recurva</i>
Alimentação humana	<i>Phaseolus vulgaris</i> <i>Glycine max</i> <i>Vigna unguiculata</i>
Cercas vivas	<i>Gliricidia sepium</i> <i>Leucaena leucocephala</i> <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>
Produtos medicinais	<i>Entada polyphylla</i> <i>Piptadenia macrocarpa</i> <i>Ormosia coccinea</i>
Produtos aromáticos	<i>Dimorphandra parviflora</i> <i>Myroxilum balsamum</i> <i>Tachigali cavipes</i> <i>Acacia polyphylla</i>
Fitoquímicos	<i>Derris negrensis</i>

As leguminosas são a terceira maior família de plantas com flores, só sendo superada pela Orchidaceae e Asteraceae. A classificação das leguminosas apresenta divergências entre os autores. Cronquist (1988) e outros propuseram que fossem reconhecidas 3 famílias distintas (Fabaceae, Caesalpiniaceae e Mimosaceae), o que não foi aceito pelos especialistas em leguminosas. Outros autores, apesar de reconhecer as leguminosas como uma única família, com base em dados macromoleculares e de cladística (i.e. método de análise de relações evolutivas entre os seres vivos), denominam as leguminosas como a família Fabaceae. Neste livro, adota-se a recomendação de Lewis et al. (2003a) que consideram todas as leguminosas em uma única família denominada Leguminosae, em função da predominância do tipo de fruto "legume" entre suas espécies. No entanto, outros tipos de frutos ocorrem em alguns gêneros, como: crapéio (e.g. *Mimosa*), drupa (e.g. *Andira*), folículo (e.g. *Anadenathera*), lomento (e.g. *Desmodium*) e sâmara (e.g. *Tipuana*) (Souza & Lorenzi, 2005). Estima-se que a família Leguminosae possua cerca de 20.000 espécies e cerca de 700 gêneros (Lewis et al., 2003b). A Leguminosae se divide em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, que diferem bastante com relação ao hábito de crescimento de suas espécies, assim como a capacidade de formar simbiose com BFNN, entre outras características. Uma quarta subfamília, Cercideae, compreendendo apenas cerca de 10 gêneros (e.g. *Cercis*, *Bauhinia*) é também reconhecida atualmente por alguns autores. Cercideae, Mimosoideae e Papilionoideae são consideradas monofiléticas, ou seja, todas as suas espécies são derivadas de uma única espécie ancestral que está incluída na subfamília, mas várias evidências indicam que Caesalpinioideae é parafilética, ou seja, os seus integrantes têm um ancestral comum que está incluído na subfamília, mas esta não inclui todos os descendentes desse ancestral. As Caesalpinioideae possuem cerca de 3.000 espécies, sendo, a maioria, arbórea tropical. As Mimosoideae também têm cerca de 3.000 espécies, em geral arbóreas não só tropicais, mas também subtropicais e temperadas. Três gêneros importantes nesse grupo são *Acacia*, *Mimosa* e *Inga*, com, respectivamente, 1.500, 400 e 350 espécies, abrangendo, portanto, a maioria das Mimosoideae. As Papilionoideae representam o grupo mais numeroso, com cerca de 14.000 espécies, na maioria espécies herbáceas; no entanto, a subfamília compreende também cerca de 4.000 a 5.000 espécies arbóreas, inclusive tropicais.

As leguminosas estão bem representadas nos principais ecossistemas brasileiros, em diversidade de espécies (**Tabelas 9.17 e 9.18**) e número de indivíduos. Geralmente, em vários ecossistemas é a família com maior diversidade de espécies e está entre as cinco com maior número de indivíduos. Embora não existam dados sobre o número de espécies de leguminosas na Mata Atlântica, e considerando-se que muitas espécies são endêmicas, ou seja, estão restritas a determinadas regiões, pode-se estimar pelo número de espécies observadas na Amazônia e no Cerrado que cerca de 10% das espécies da família ocorrem no Brasil, ou seja, 2.000 espécies. De modo geral, e mesmo em regiões bastante exploradas, como as regiões Sul e Sudeste, os ecossistemas têm porcentagem significativa de leguminosas nodulíferas (Tabela 9.18).

9.8.2. Nodulação em Leguminosae

A simbiose de leguminosas com BFNN caracteriza-se pela formação de estruturas hipertróficas nas raízes e, excepcionalmente, no caule, denominadas nódulos. A capacidade de formar simbiose com BFNN, ou seja, a capacidade de nodular, não é comum a todas as espécies de leguminosas.

488 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.17. Número de gêneros e espécies de leguminosas em ecossistemas brasileiros (Kirkbride Júnior, 1984; Silva et al., 1989).

Subfamília	Números			
	Gêneros		Espécies	
	Amazônia	Cerrado	Amazônia	Cerrado
Caesalpinioideae	45	13	469	212
Mimosoideae	23	11	288	91
Papilionoideae	73	47	464	252
Total	141	71	1221	555

Tabela 9.18. Frequência do número total e de espécies nodulíferas de Leguminosae em relação ao número total de espécies de outras famílias botânicas em 32 levantamentos de vegetação de ecossistemas florestais no Brasil (Compilado de vários autores por Pereira et al., 1998).

Estado/ Data do levantamento	Frequência de espécies de Leguminosae (%)	
	Total	Nodulíferas*
Amazonas (1971-1987)	8,9 – 25,9**	4,2 – 11,7
Pará (1987)	13,1 – 20,8**	Nd
Maranhão (1993-1996)	13,4 – 18,1**	4,8
Rondônia (1987)	15,8 – 16,9**	9,0
Minas Gerais (1992-1994)	9,8 – 19,7**	7,4 – 14,6
Espírito Santo (1992)	12,9 **	7,7
São Paulo (1992-1996)	3,6 – 27,5 **	2,8 – 16,7
Paraná (1996)	20,0	15,7
Rio Grande do Sul (1992)	18,3 – 22,2**	13,3 – 15,9
Distrito Federal (1996)	20,7	13,5

* Considerando espécies de gêneros ou tribos nodulíferos.

** Leguminosae foi a família com a maior diversidade de espécies.

Muitas espécies não possuem essa característica; entre elas, podemos citar o jatobá (*Hymenae courbaril*) e o pau-brasil (*Caesalpinia echinata*). Além disso, para a maioria das espécies não são disponíveis informações sobre essa característica. Graham (1976) e Allen & Allen (1981) já alertavam para o fato de que a capacidade de nodular ou não só era conhecida em 12-15% das espécies da família, e que a maioria de espécies sem informação eram leguminosas arbóreas tropicais. Desde então, levantamentos intensivos no campo, casa de vegetação e viveiro têm sido realizados para verificar a capacidade de nodulação em leguminosas, principalmente em áreas tropicais. No Brasil, vários gêneros de espécies florestais foram estudados pela primeira vez nos últimos anos; assim, vários gêneros nodulíferos e não nodulíferos foram descobertos (**Tabela 9.19**). A posição atual é que cerca de 23% de todas as espécies no mundo (considerando o número total de 16.567 espécies na família) já foram estudadas a esse respeito e que, destas, 88% são espécies nodulíferas (Faria et al., 1999). A maioria das espécies não nodulíferas são Caesalpinioideae. Nesse grupo, 76% das espécies já examinadas são incapazes de estabelecer simbiose com rizóbio. Nas Mimosoideae e Papilionoideae, o número de espécies não nodulíferas é bem menor; das espécies examinadas até o momento, respectivamente, 13 e 4% são incapazes de nodular. A capacidade de nodulação parece correlacionar-se com a evolução dentro da família. Os grupos mais primitivos (e.g. Caesalpinioideae, tribos Ceratoniinae e Cercidinae) não são nodulíferos (**Figuras 9.11 e 9.12**) e nos mais evoluídos, como as Papilionoideae avançadas, predominam espécies nodulíferas. A capacidade de nodulação pode variar dentro do mesmo gênero, como em *Acacia*, que possui tanto espécies nodulíferas como não nodulíferas. Doyle & Luckow (2003) questionam se o sucesso evolucionário das leguminosas é devido à nodulação, uma vez que se todos os taxa nodulíferos, que representam a maioria das espécies, fossem removidos, a importância da família em termos de diversidade estaria comprometida. No entanto, assinalam que outras famílias que apresentam nodulação, como as que formam simbiose com *Frankia*, não possuem a mesma diversidade das leguminosas, concluindo, assim, que a nodulação, por si só, não é a responsável pelo sucesso da família. Um dos motivos para esse sucesso pode ser um estilo de vida que demanda altos níveis de nitrogênio (McKey, 1994). Espécies nodulíferas apresentam teores mais elevados de nitrogênio em seus tecidos vegetais, em relação a outras não nodulíferas; no entanto, mesmo nestas, esses teores, embora menores, são maiores que os de espécies de outras famílias. Assim, provavelmente, nas leguminosas a nodulação resultou de um processo evolutivo que selecionou a característica de fornecer nitrogênio mais eficientemente, de modo a atender às altas demandas da família.

A divergência filogenética da família, sugerida por Polhill et al. (1981) e Polhill (1981) (**Figuras 9.11 e 9.12**) têm sido aperfeiçoada com base em sequências do genes *rbcl*, *trnL* e *matK*. A mais recente, baseada em 330 seqüências do gene *matK*, representando 235 gêneros de 37 das 39 tribos, é consistente com as obtidas pelos outros genes de plastídeo combinados ou não com caracteres morfológicos, mas indica maior resolução (Wojciechowski et al., 2004) (**Figura 9.13**). Esses resultados corroboram a monofilia da família Leguminosae e das subfamílias Papilionoideae e Mimosoideae, assim como a parafilia da subfamília Caesalpinioideae. Provavelmente, num futuro próximo, os avanços nessa área auxiliarão a esclarecer os fatores determinantes para a capacidade de simbiose (i.e. nodulação e FBN) em espécies de Leguminosae.

490 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.19. Gêneros de leguminosas brasileiras, examinados quanto à capacidade de nodular (Sylvester-Bradley et al., 1980; Magalhães et al., 1982; Bonetti et al., 1984; Faria et al., 1984 a e b; Magalhães & Fernandes, 1984; Magalhães, 1986; Faria et al., 1987; Faria et al., 1989; Moreira et al., 1992; Souza et al., 1994; Barberi et al., 1998; Faria & Lima, 1998 comparados a Allen & Allen, 1981).

Gêneros nodulíferos	Gêneros não nodulíferos	Gêneros com informações conflitantes (*)
<i>Abarema</i> (M) ^(**)	<i>Acrocarpus</i> (C)	<i>Acosmium</i> (P)
<i>Affonsea</i> (M)	<i>Aldina</i> (P)	<i>Brownea</i> (C)
<i>Ateleia</i> (P)	<i>Amburana</i> (P)	<i>Delonix</i> (C)
<i>Bergeronia</i> (P)	<i>Apuleia</i> (C)	<i>Dialium</i> (C)
<i>Bowdichia</i> (P)	<i>Batesia</i> (C)	<i>Dicorynia</i> (C)
<i>Cadia</i> (P)	<i>Bocoa</i> (P)	<i>Elizabetha</i> (C)
<i>Campsiandra</i> (C)	<i>Cenostigma</i> (C)	<i>Hymenaea</i> (C)
<i>Cedrelinga</i> (M)	<i>Dinizia</i> (M)	<i>Myrocarpus</i> (P)
<i>Centrolobium</i> (P)	<i>Exostyles</i> (P)	<i>Myroxilon</i> (P)
<i>Cyclobium</i> (P)	<i>Heterostemon</i> (C)	<i>Phyllocarpus</i> (C)
<i>Dalhstedtia</i> (P)	<i>Goniorrachis</i> (C)	<i>Zollernia</i> (P)
<i>Diplostropis</i> (P)	<i>Grazielodendron</i> (P)	
<i>Etaballia</i> (P)	<i>Lecointea</i> (P)	
<i>Gagnebina</i> (M)	<i>Luetzelburgia</i> (P)	
<i>Goldmania</i> (M)	<i>Martiodendron</i> (C)	
<i>Marmaroxylon</i> (M)	<i>Monopteryx</i> (P)	
<i>Melanoxylon</i> (C)	<i>Nissolia</i> (P)	
<i>Mimozigunthus</i> (M)	<i>Poeppigia</i> (C)	
<i>Moldenhaurea</i> (C)	<i>Pterodon</i> (P)	
<i>Platyciamus</i> (P)	<i>Schizolobium</i> (C)	
<i>Plathymenia</i> (M)	<i>Sweetia</i> (P)	
<i>Plathypodium</i> (P)	<i>Taralea</i> (P)	
<i>Poecilanthe</i> (P)	<i>Tetrapleura</i> (M)	
<i>Pseudopiptadenia</i> (M)	<i>Vatairea</i> (P)	
<i>Pseudosamanea</i> (M)	<i>Vataireopsis</i> (P)	
<i>Riedellia</i> (P)		
<i>Vouacapoua</i> (C)		

(*) São reportados tanto nodulíferos como não nodulíferos; (**) (M) Mimosoideae, (P) Papilionoideae, (C) Caesalpinioideae

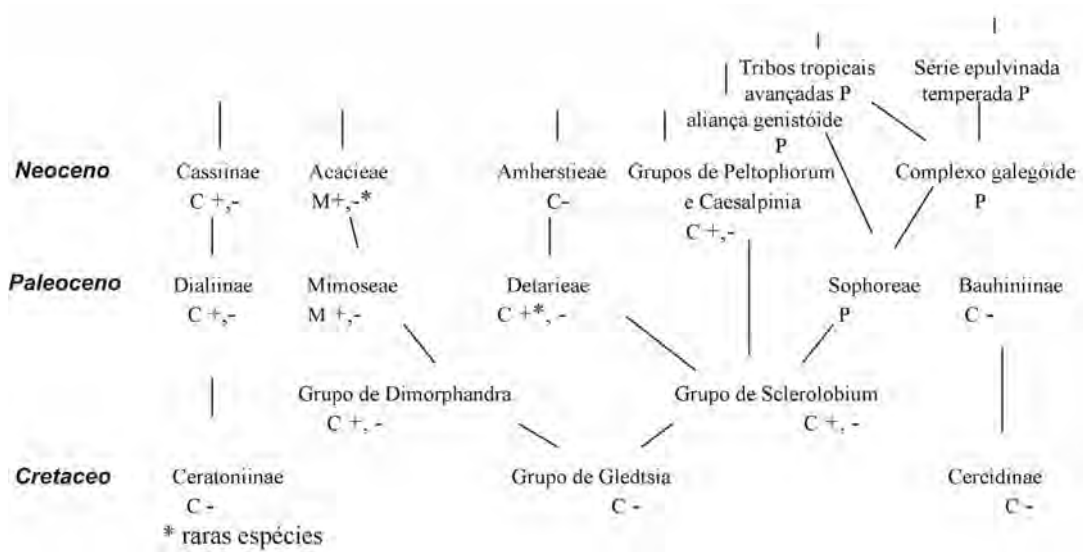


Figura 9.11. Ocorrência de espécies nodulíferas (+) e não nodulíferas (-) em tribos e grupos de Caesalpinioideae e Mimosoideae arranjados segundo a suposta divergência filogenética proposta por Polhill et al., 1981. (Moreira, 1991.)

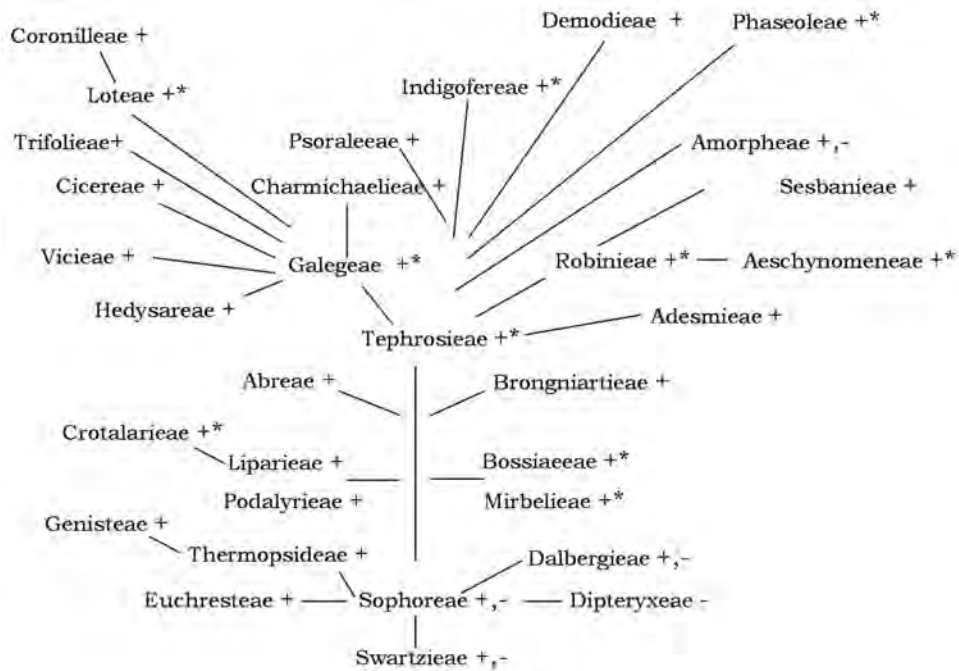


Figura 9.12. Ocorrência de espécies nodulíferas (+) e não nodulíferas (-) em tribos de Papilionoideae arranjados segundo a suposta divergência filogenética proposta por Polhill, 1981. (Moreira, 1991.)

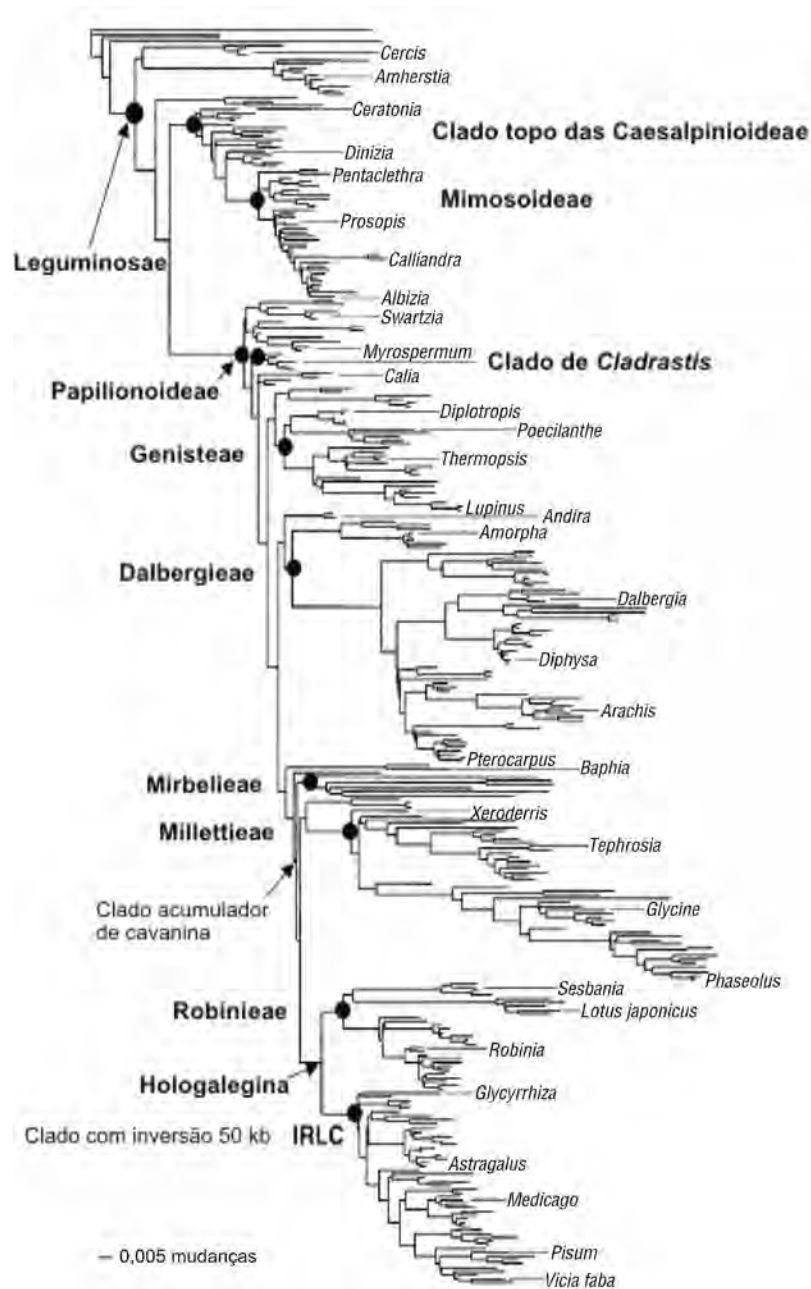


Figura 9.13. Árvore Bayesiana representativa, amostrada de acordo com probabilidades posteriores a partir de uma análise de 330 seqüências de matK de leguminosas. Comprimento estimado dos ramos são mostrados de acordo com escala indicada abaixo. Os principais subclados de Leguminosae e taxa representativos estão indicados por círculos preenchidos. (Wojciechowski et al., 2004.)

9.8.3. Taxonomia de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas (BFNNL)

A taxonomia das BFNNL avançou muito nos últimos anos. Até 1982, apenas um gênero e seis espécies eram descritos. Desde então, não só os avanços da Biologia Molecular, mas também o estudo de novas simbioses recém descobertas contribuíram para a descrição de 13 novos gêneros e 48 novas espécies (**Tabela 9.20**), totalizando 12 gêneros e 54 espécies. Apesar disso, considera-se que o número de espécies existentes ainda esteja bastante subestimado, uma vez que a maioria das espécies da família (11.200) ainda não foi pesquisada quanto a sua capacidade de nodular e, conseqüentemente, características das bactérias a elas associadas são também desconhecidas. Além disso, parte significativa das BFNNL isoladas da maioria das espécies nodulíferas conhecidas até o momento, principalmente as tropicais, precisa ser estudada (Moreira, 2006). A maioria das espécies descritas ainda se baseia em isolados de espécies herbáceas (principalmente leguminosas produtoras de grãos como *Phaseolus vulgaris* e *Glicine max*) de área temperada (Tabela 9.20), onde os laboratórios têm mais recursos financeiros para utilização de técnicas avançadas da Biologia Molecular. A tabela 9.20 também indica a estirpe-tipo de cada espécie, ou seja, uma estirpe constituída de culturas viáveis do organismo, as quais são descendentes da estirpe designada como o tipo nomenclatural da espécie. A estirpe-tipo deve ser depositada em, pelo menos, duas coleções reconhecidas de países diferentes. Geralmente, as estirpes, incluindo as tipo, recebem códigos diferentes quando são depositadas em outras coleções, o que causa muita confusão, pois, geralmente, os trabalhos nesses laboratórios publicam os resultados com seu próprio código. Isso dificulta, por exemplo, a compilação e o relacionamento de informações provenientes de laboratórios diversos, para uma mesma estirpe, uma vez que os vários códigos a ela atribuídos, nem sempre são de conhecimento geral. Já, para algumas estirpes, a mesma informação é obtida por laboratórios diferentes, implicando gasto desnecessário de recursos. Além disso, o isolamento e qualquer tipo de caracterização de uma espécie (ou estirpe) demanda capacitação, tempo e recursos. Portanto, o mérito de sua obtenção deve ser destinado a quem os realizou. Assim, na tabela 9.20 é fornecido o código do laboratório/instituição de onde a estirpe-tipo se originou, pois, em nosso laboratório, estão sendo mantidos os códigos originais de todas as estirpes nos trabalhos publicados.

O grupo denominado vulgarmente "rizóbio" são alfa-Proteobactérias gram-negativas, aeróbicas obrigatórias sem endosporos, que produzem hipertrofias corticais em plantas, denominadas nódulos. Além disso, utilizam vários carboidratos e produzem polissacarídeos extracelulares. Essas duas últimas características, no entanto, podem variar inter e intra-gêneros e espécies. Já o tipo de flagelação é característico de cada gênero, podendo apresentar pequena variação com o tipo de meio de cultivo. Em *Azorhizobium*, surge um flagelo lateral ou flagelação do tipo peritríquea. Esta última ocorre em todos os gêneros, exceto em *Bradyrhizobium*. Um flagelo subpolar ou polar pode ser encontrado tanto em *Bradyrhizobium* como em *Mesorhizobium*, *Rhizobium* e *Sinorhizobium*. Apesar de serem bactérias predominantemente quimiorganotróficas, descobriu-se quimiolitotrofia em algumas estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*.

Tabela 9.20. Gêneros e espécies de bactérias fixadoras de N₂ que nodulam Leguminosae com respectivas estirpes tipo e espécies hospedeiras, mencionadas nas publicações originais de descrição das espécies.

Filo/Ordem/Família/Genêro/Espécie/Referência/Estirpe-tipo	Espécies Hospedeiras
Filo α-Proteobacteria - Ordem Rhizobiales	
Família Rhizobiaceae	
<i>Rhizobium</i> (Frank, 1889)	
<i>R. leguminosarum</i> (Frank, 1879, 1889), biovares <i>phaseoli</i> , <i>trifolii</i> , <i>viciae</i> (Jordan, 1984)/ ATCC10004 ^T	Phaseolus vulgaris , <i>P. multiflorus</i> , <i>P. angustifolius</i> , <i>Trifolium</i> spp., <i>Pisum</i> spp., <i>Vicia</i> spp., <i>Lens</i> spp., <i>Macroptilium atropurpureum</i> , <i>Lathyrus</i> spp.
<i>R. galegae</i> (Lindström, 1989)/ HAMB1540 ^T	<i>Galega orientalis</i> , <i>G. officinalis</i>
<i>R. tropici</i> (Martinez-Romero et al., 1991)/ CIAT899 ^T	Phaseolus vulgaris , <i>Leucaena sculenta</i> , <i>Leucaena leucocephala</i>
<i>R. etii</i> (Segovia et al., 1993)/ CFN42 ^T	Phaseolus vulgaris
<i>R. giardinii</i> (Amarger et al., 1997) biovares <i>phaseoli</i> , <i>giardinii</i> / HT152 ^T	Phaseolus vulgaris , <i>Phaseolus</i> spp., <i>Macroptilium atropurpureum</i> , <i>L. leucocephala</i>
<i>R. gallicum</i> (Amarger et al., 1997)/ R602sp ^T	Phaseolus vulgaris , <i>Phaseolus</i> spp., <i>Macroptilium atropurpureum</i> , <i>L. leucocephala</i> , <i>Onobrychis viciifolia</i>
<i>R. hainanense</i> (Chen et al., 1997)/ I66 ^T	<i>Macroptilium lathyroides</i> , <i>Zornia diphila</i> , <i>Uraria crinita</i> , <i>Desmodium sinuatum</i> , <i>Stylosanthes guianensis</i> , <i>Desmodium gyroides</i> , <i>Acacia sinuata</i> , <i>Tephrosia candida</i> , <i>Arachis hypogaea</i> , <i>Centrosema pubescens</i> , <i>Desmodium triquetrum</i> , <i>Desmodium heterophyllum</i> , <i>Vigna unguiculata</i>
<i>R. mongolense</i> (van Berkun et al., 1998)/ USDA1844 ^T	<i>Medicago ruthenica</i> , Phaseolus vulgaris , <i>Vicia vilosa</i> , <i>V. angularis</i>
<i>R. huaitlense</i> (Wang et al., 1998)/ S02 ^T	<i>Sesbania herbaceae</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Sesbania rostrata</i> , <i>Trifolium repens</i>
<i>R. etii biovar mimosae</i> (Wang et al., 1999a)	<i>Mimosa affinis</i> , Phaseolus vulgaris , <i>Leucaena leucocephala</i>
<i>R. yanglingense</i> (Tan et al., 2001)/ CGBAU71623 ^T	<i>Amphicarpaea trisperma</i> , <i>Coronilla varia</i> , <i>Gueldenstaedtia multiflora</i> , Phaseolus vulgaris , <i>Galega orientalis</i> , <i>Leucaena leucocephala</i>
<i>R. sullae</i> (Squartini et al., 2002)/ IST23 ^T	<i>Hedysarum coronarium</i>
<i>R. indigoterae</i> (Wei et al., 2002)/ CGBAU71714 ^T	<i>Indigofera</i> spp.
<i>R. loessense</i> (Wei et al., 2003)/ CGBAU7190B ^T	<i>Astragalus</i> spp., <i>Lespedeza</i> spp.
<i>R. daejeonense</i> (Quan et al., 2005)/ L61 ^T	<i>Medicago sativa</i>
<i>Sinorhizobium</i> (Chen et al., 1988; De Lajudie et al., 1994)	
<i>S. meliloti</i> (Dangeard, 1926; Jordan et al., 1984; de Lajudie et al., 1994)/ NZP 4027 ^T	<i>Melilotus</i> spp., <i>Medicago</i> spp., <i>Trigonella</i> spp.

Continua...

... Continuação	Filo/ Ordem/Família/Genêro/Espécie/ Referência/Estirpe-tipo	Espécies Hospedeiras
	<i>S. fredii</i> (Scholla and Elkan, 1984; Chen et al., 1988; de Lajudie et al., 1994)/ USDA205 ^T	<i>Glicine max</i> , <i>G. soja</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i>
	<i>S. xinjiangense</i> (Chen et al., 1988)/ CCB AU 110 ^T	<i>Glicine max</i>
	<i>S. sahelii</i> (de Lajudie et al., 1994)/ ORS609 ^T	<i>Sesbania spp.</i> , <i>Acacia seyal</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Neptunia oleraceae</i>
	<i>S. teranga</i> (de Lajudie et al., 1994)/ ORS1009 ^T	<i>Sesbania spp.</i> , <i>Acacia spp.</i> , <i>N. oleraceae</i> , <i>L. leucocephala</i>
	<i>S. medicae</i> (Rome et al., 1996)/ A321 ^T	<i>Medicago spp.</i>
	<i>S. arboris</i> (Nick et al., 1999)/ HAMB11552 ^T	<i>Acacia senegal</i> , <i>Prosopis chilensis</i>
	<i>S. kostiense</i> (Nick et al., 1999)/ HAMB11489 ^T	<i>Acacia senegal</i> , <i>Prosopis chilensis</i>
	<i>S. [Ensifer (?)](Casida, 1982, Young, 2003)]adhaerens</i> (Willems et al., 2003)/ R-14065 ^T	<i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Pithecelobium dulce</i> , <i>Sesbania grandiflora</i> , <i>Medicago sativa</i>
	<i>S. morelense</i> (Wang et al., 2002)/ Lc57 ^T	<i>Leucaena leucocephala</i>
	<i>S. kummerowiae</i> (Wei et al., 2002)/ CCB AU71042 ^T	<i>Kummerowia stipulacea</i>
	<i>S. americanum</i> (Toledo et al., 2003)/ CFNE1156 ^T	<i>Acacia spp.</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> ; <i>Phaseolus vulgaris</i>
	<i>Allorhizobium</i> (de Lajudie et al., 1998a)*	
	<i>A. [(Rhizobium)Young et al., 2001]] undicola</i> (de Lajudie et al., 1998)/ ORS992 ^T	<i>Neptunia natans</i> , <i>Lotus arabicus</i> , <i>Acacia seyal</i> , <i>Faidherbia albida</i> , <i>Acacia tortilis</i> , <i>Medicago sativa</i> , <i>Acacia senegal</i>
	Família Bradyrhizobiaceae	
	<i>Bradyrhizobium</i> (Jordan, 1984)	<i>Macroptilium atropurpureum</i> , <i>Ornithopus sativus</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Lupinus spp.</i>
	<i>B. japonicum</i> (Jordan, 1984)/ ATCC10324 ^T	<i>Glycine soja</i> , <i>G. max</i>
	<i>B. elkanii</i> (Kuykendall et al., 1992)/ USDA76 ^T	<i>G. soja</i> , <i>G. max</i> , <i>Phaseolus aureus</i>
	<i>B. liaoningense</i> (Xu et al., 1995)/ 2281 ^T	<i>Lespedeza spp.</i>
	<i>B. yuanmingense</i> (Yao et al., 2002)	<i>Chamaecytisus proliferus</i> , <i>Telina spp.</i> , <i>Lupinus spp.</i> , <i>Adenocarpus spp.</i> , <i>Spartocytisus supranubius</i> , <i>Ornithopus spp.</i>
	<i>B. canariense</i> (Vinuesa et al., 2005)/ BTA-1 ^T	<i>Macroptilium atropurpureum</i> , <i>Aeschynomene spp.</i> , <i>Crotalaria spp.</i> , <i>Lotus spp.</i> , <i>Vigna spp.</i> , <i>Lupinus spp.</i> , <i>Ornithopus spp.</i> , <i>Cicer spp.</i> , <i>Sesbania spp.</i> , <i>Leucaena spp.</i> , <i>Mimosa spp.</i> , <i>Lab-lab spp.</i> , <i>Acacia spp.</i> , <i>Macroptilium spp.</i> , <i>Glycine spp.</i>
	<i>B. spp.</i>	
	<i>Blastobacter</i>	
	<i>B. denitrificans</i> (van Berkun and Eardly, 2002; van Berkun et al., 2006)**/ IFAM1005 ^T	<i>Aeschynomene indica</i>

Continua...

... Continuação

Filo/ Ordem/Família/Genêro/Espécie/ Referência/Estirpe-tipo	Espécies Hospedeiras
Família Xanthobacteraceae	
<i>Azorhizobium</i> (Dreyfus et al., 1988)	<i>Sesbania rostrata</i>
<i>A. caulinodans</i> (Dreyfus et al., 1988)/ ORS571 ^T	<i>Sesbania virgata</i> , <i>S. rostrata</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Macroptilium atropurpureum</i>
<i>A. doebereineriae</i> (syn. <i>A. johannae</i>) (Moreira et al., 2006)/ BR5401 ^T	
Família Hyphomicrobiaceae	
<i>Devosia</i>	<i>Neptunia natans</i>
<i>D. neptunitea</i> (Rivas et al., 2002, 2003)/ JI ^T	
Família Phyllobacteriaceae	
<i>Mesorhizobium</i> (Jarvis et al., 1997)	<i>Wisteria frutescens</i> , <i>Caragana</i> spp., <i>Lotus</i> spp., <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>M. atropurpureum</i> , <i>Genista</i> spp., <i>Lupinus densiflorus</i> , <i>Anthyllis vulneraria</i> , <i>Ornithopus sativus</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Cicer arietinum</i> , <i>Mimosa</i> spp., <i>Caragana arborescens</i>
<i>M. loti</i> (Jarvis et al., 1982; Jordan et al., 1984; Jarvis et al., 1997)/ NZP2213 ^T	<i>Astragalus sinicus</i> , <i>Vicia villosa</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Sesbania</i> sp., <i>A. aliginosus</i> , <i>A. adsurgens</i>
<i>M. huakuii</i> (Chen et al., 1991; Jarvis et al., 1997)/ CCBAU2609 ^T	<i>Cicer arietinum</i>
<i>M. ciceri</i> (Nour et al., 1994; Jarvis et al., 1997)/ UPMCa7 ^T	<i>Glycyrrhiza pallidiflora</i> , <i>G. uralensis</i> , <i>G. sp.</i> , <i>Halimodendron holodendron</i> , <i>Sophora alopecuroides</i> , <i>Caragana polourensis</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Swainsonia salsola</i>
<i>M. tianshanense</i> (Chen et al., 1995; Jarvis et al., 1997)/ A-1BS ^T	<i>Cicer arietinum</i>
<i>M. mediterraneum</i> (Nour et al., 1995; Jarvis et al., 1997)/ UPM-Ca36 ^T	<i>Prosopis juliflora</i> , <i>Neptunia oleraceae</i> , <i>Acacia senegal</i> , <i>A. seyal</i> , <i>A. tortilis</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>L. pulvurulenta</i> , <i>L. diversifolia</i> , <i>Chamaecrista ensiformis</i> , <i>Acacia nilotica</i>
<i>M. plurifarium</i> (DeLajudie et al., 1998b)/ ORS1032 ^T	<i>Amorpha fruticosa</i>
<i>M. amorphae</i> (Wang et al., 1999b)/ ACCC19665 ^T	<i>Prosopis alba</i> , <i>P. chilensis</i> , <i>P. flexuosa</i>
<i>M. chacoense</i> (Velazquez et al., 2001)/ CECT 5336 ^T	<i>Astragalus adsurgens</i>
<i>M. temperatum</i> (Gao et al., 2004)/ SIDW018 ^T	<i>Astragalus adsurgens</i>
<i>M. septentrionale</i> (Gao et al., 2004)/ SIDW014 ^T	

Continua...

...Conclusão	Espécies Hospedeiras
Filo/ Ordem/Família/Genêro/Espécie/ Referência/Estirpe-tipo	
Família Methylobacteriaceae	
<i>Methylobacterium</i>	
<i>M. nodulans</i> (Sy et al., 2001, Jourand et al., 2004)/ ORS2060 ^T	<i>Crotalaria</i> spp.
Família Brucellaceae	
<i>Ochrobactrum</i>	
<i>Ochrobactrum lupini</i> (Trujillo et al., 2005)/ LUP21 ^T	<i>Lupinus onoratus</i>
Filo β-Proteobacteria- Ordem Burkholderiales	
Família Burkholderiaceae	
<i>Burkholderia</i> sp. (Moulin et al., 2001)	<i>Aspalathus</i> sp., <i>Machaerium</i> sp.; <i>Macroptilium atropurpureum</i>
<i>B. tuberum</i> (Vandamme et al., 2002)/ STM678 ^T	<i>Aspalathus</i> carnosa
<i>B. phymatum</i> (Vandamme et al., 2002)/ STM815 ^T	<i>Machaerium lunatum</i>
<i>B. caribensis</i> (Vandamme et al., 2002)/ MWAF64 ^T	<i>Mimosa diplotricha</i> , <i>M.pudica</i>
<i>B. cepacia genomovar VI</i> (Vandamme et al., 2002)	<i>Alysicarpus</i> carnosa
<i>Ralstonia</i>	
<i>R. taiwanensis</i> (Chen et al., 2001)/ CCUG44338 ^T ***	<i>Mimosa pudica</i> , <i>M. dilitricha</i>

Observação: *Young et al. (2001) propuseram incluir as espécies de *Agrobacterium*: *A. tumefaciens* (Syn. *A. radiobacter*), *A. rhizogenes*, *A. rubi*, *A. vilis* e *Allorhizobium undicola* em *Rhizobium*; ** Autores do primeiro trabalho não descreveram a espécie, mas descobriram que são capazes de nodular leguminosas. Os autores do segundo trabalho estão propondo denominar a espécie *Bradyrhizobium denitrificans*.*** O gênero *Wautersia* (Vanechoutte et al., 2004) e, posteriormente *Cupriavidus* (Vandamme & Conye, 2004) foram propostos para acomodar essa espécie.Obs.:a espécie hospedeira-*Phaseolus vulgaris* - foi assinalada em negrito para constatação de sua promiscuidade simbiótica.

498 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Os gêneros de rizóbio descritos até o momento podem ser diferenciados com base em características culturais e morfológicas em meio 79 (extrato de levedura, manitol, sais e ágar, descrito em Fred & Waksman (1928), também conhecido como YMA (Vincent, 1970) (**Tabela 9.21**). Norris (1965) postulou que em áreas tropicais havia predominância de estirpes de crescimento lento alcalinizantes (atualmente classificadas no gênero *Bradyrhizobium*) e em áreas temperadas com predominância de estirpes com crescimento rápido e acidificantes (atualmente *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* e *Allorhizobium*). Essas características são relacionadas ao crescimento em meio com manitol, mas podem ser generalizadas para outras fontes de carbono, ou seja, estirpes que acidificam meio com manitol também acidificam com outras fontes de carbono, assim como as alcalinizantes, de modo geral, causam esse tipo de reação em todas as fontes de carbono. No entanto, algumas exceções têm sido verificadas. O gênero *Azorhizobium* é outro tipo de exceção, pois suas estirpes têm crescimento rápido e são alcalinizantes. *Mesorhizobium* também compreende estirpes de crescimento intermediário. Embora estirpes dos tipos “rápidas acidificantes” e “lentas alcalinizantes” possam ocorrer tanto em regiões tropicais como temperadas, é interessante verificar que a hipótese de Norris ganha mais fundamento

Tabela 9.21. Principais características culturais em YMA dos gêneros dos rizóbios.

<i>Rhizobium</i> e <i>Sinorhizobium</i>	- Colônias circulares com 2 a 4 mm de diâmetro, quando isoladas. Com o tempo, aumentam de tamanho até coalescerem em virtude da produção intensa de polissacarídeos extracelulares (PSE), são convexas, semitranslúcidas e mucilaginosas. Muitas estirpes apresentam centro amarelo devido à absorção do indicador de pH (azul-de-bromotimol - AB). Geralmente produz reação ácida no meio, mas pode não produzir modificação visível do pH (indicada pelo AB). Tempo para aparecimento de colônias isoladas (TACI): 2 a 3 dias (crescimento rápido).
<i>Mesorhizobium</i>	- Idem anteriores mas TACI: 3 a 5 dias (crescimento rápido a intermediário).
<i>Allorhizobium</i>	- Idem anteriores, mas colônias 0,5 - 3 mm de diâmetro e TACI: 1 a 2 dias.
<i>Azorhizobium</i>	- Colônias circulares, 0,5 mm de diâmetro com coloração creme, muito pouca produção de PSE (bem menor que <i>Bradyrhizobium</i>). Produz reação alcalina no meio, TACI: 3 a 4 dias (crescimento intermediário a rápido).
<i>Bradyrhizobium</i>	- Colônias circulares, não excedem 1 mm quando isoladas. Produção de PSE: pouco (geralmente nas estirpes de crescimento muito lento) a abundante. Geralmente opacas, menos freqüentemente translúcidas. Brancas, convexas, textura granular. Produz reação alcalina no meio. TACI : 6 a mais de 10 dias (crescimento lento a muito lento).

quando se verifica que a maior parte das novas espécies e gêneros descritos foi justamente baseada em isolados com crescimento rápido e acidificantes oriundos de áreas temperadas. Já, a maioria de isolados de espécies florestais no Brasil podem ser classificados como *Bradyrhizobium* (Tabela 9.22).

Outro fato interessante é a afinidade filogenética que existe entre espécies de BFNNL e patógenos vegetais e animais. Já há muito tempo a afinidade entre *Rhizobium* e espécies patogênicas vegetais do gênero *Agrobacterium* (e.g. *A. tumefaciens*) é conhecida. A afinidade filogenética entre as bactérias que nodulam leguminosas e patógenos animais dos gêneros *Ochrobactrum*, *Bartonella*, *Brucella* e *Afiplia* também foi comprovada, indicando que genes simbióticos e patogênicos estão relacionados. Recentemente, foi descoberto que β -Proteobactéria do gênero *Burkholderia*, que possui importantes patógenos humanos, e um quarto grupo de α -Proteobactéria (*Methylobacterium*) são também capazes de nodular leguminosas dos gêneros *Aspalathus*, *Machaerium* e *Macroptilium* (*Burkholderia*) (Moulin et al., 2001) e *Crotalaria* (*Methylobacterium*) (Sy et al., 2001). Simultaneamente, espécies do gênero *Burkholderia*, que apresentam crescimento rápido em meio 79, foram encontradas com alta frequência em diversos sistemas de uso da terra da Amazônia e nodulando várias espécies de leguminosas florestais (Moreira et al., 2002). Outros trabalhos têm demonstrado que simbioses de leguminosas com β -Proteobactéria são bastante comuns nos ecossistemas (Vandamme et al., 2002; Chen et al., 2003). Essas descobertas indicam que a diversidade de procaríotos, capazes de estabelecer simbiose com leguminosas, pode ser muito mais ampla que o previsto e certamente conduzirão a avanços significativos no conhecimento da origem e evolução da fixação biológica de N_2 , assim como sua manipulação pelo homem.

Tabela 9.22. Características culturais de 705 estirpes de rizóbio isoladas de leguminosas florestais nativas da Amazônia e da Mata Atlântica (Moreira, 1991; Moreira et al., 1993).

Origem subfamília	Total	Características culturais em meio YMA*			
		CR	CI	CL	CML
		%	%	%	%
Caesalpinioideae	64	14	4	67	14
Mimosoideae	444	40	15	36	10
Papilionoideae	197	20	10	53	17

* *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Azorhizobium*. CR = crescimento rápido, geralmente acidificantes; CI = crescimento intermediário, geralmente acidificantes ou alcalinizantes no caso de *Azorhizobium*; *Bradyrhizobium*. CL = crescimento lento, alcalinizantes; CML = crescimento muito lento, alcalinizantes.

9.8.4. Estabelecimento da simbiose

No conceito original, simbiose significa vida conjunta de dois organismos dissimilares sem levar em consideração a natureza da relação, isto é, se parasítica ou mutualista. A simbiose de BFNN com leguminosas é geralmente subentendida como sendo mutualista. No entanto, simbioses de BFNN

500 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

podem ser parasíticas (quando há formação de nódulos inefetivos) ou mutualistas (nódulos eficientes). Nesse último caso, porém, ocorre um estágio inicial parasítico transitório quando a bactéria está recebendo fotossintatos da planta sem ainda fixar nitrogênio e transferi-lo para a planta.

As etapas fundamentais para o estabelecimento da simbiose são as seguintes:

- a) pré-infecção (reconhecimento dos simbiossitos e interações entre superfícies da bactérias e da planta);
- b) infecção da planta pela bactéria e formação do nódulo;
- c) funcionamento dos nódulos, i.e., a fixação de nitrogênio.

Todas essas etapas dependem e podem variar em função dos genótipos da planta e da estirpe envolvidos, assim como de fatores ambientais. Em BFNN, já são conhecidos pelo menos 60 genes envolvidos no processo (**Tabela 9.23**), que interferem desde o reconhecimento da planta hospedeira pela estirpe de bactéria até o transporte de substrato carbonáceo da planta para o bacteróide dentro do nódulo. A maioria dos genes para nodulação e fixação de nitrogênio dos gêneros *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium* localiza-se no cromossomo; já os gêneros *Rhizobium* e *Sinorhizobium* têm os genes localizados em plasmídeos de alto peso molecular denominados de plasmídeos Sym (pSym). Sua localização em plasmídeos torna essas características mais instáveis, uma vez que os plasmídeos podem ser perdidos em condições ambientais adversas, como altas temperaturas, o que

Tabela 9.23. Genes simbióticos identificados em rizóbio (Modificado de Hansmann et al., 1989, Göttfert, 1990 e Stacey, 1990).

Tipo de Gene	Função	Genes Identificados
hac nod/nol	Encurvamento dos pêlos radiculares "Engatilhamento" da nodulação	Nod: A, B, C, D ₁ , D ₂ , D ₃ , E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z. Nol: A, C, D, E, F, G, P, R.
hsn	Especificidade hospedeira	
efn	Genes adicionais para nodulação	
ndv	Regulação do desenvolvimento dos nódulos	
exop	Polissacarídeos extracelulares que regulam a infecção e liberação dos bacteróides	
nif	Fixação de nitrogênio	A, H, D, K, B, E, N, S, Q, W, Z.
fix	Genes adicionais envolvidos na fixação de nitrogênio	L, J, A, B, C, X, G, H, I, S, K, N, V.
dct	Transporte de ácidos dicarboxílicos como substrato para a FBN	

dificulta seu manejo. No entanto, a transferência lateral ou horizontal de plasmídeos é fonte importante de diversidade na comunidade microbiana no solo.

A **figura 9.14** resume as possibilidades de interação planta e BFNN, sem considerar a interferência marcante do ambiente. Aqui se encontra o conceito de especificidade que pode ser aplicado tanto para a bactéria como para a planta e se expressa em todos os passos do estabelecimento da simbiose mutualista. Estirpes de BFNN e espécies de leguminosas podem variar de altamente específicas até altamente promíscuas, se são capazes de estabelecer simbiose com poucos parceiros ou com vários parceiros. Por exemplo, espécies de gêneros como *Macroptilium*, *Phaseolus*, *Leucaena* e *Acacia* podem ser noduladas por várias espécies de mais de um gênero de BFNN (Tabela 9.20), sendo consideradas, portanto, promíscuas. Enquanto outras espécies como *Sesbania virgata* só são noduladas por poucas espécies de BFNN (Moreira et al., 2006), são consideradas específicas. Já com relação às BFNN, a estirpe NGR234, que foi isolada de *Lablab purpureus*, é considerada, atualmente, a mais promíscua, pois é capaz de nodular hospedeiros de 112 gêneros de Leguminosae, além de *Parasponia andersonii* (Broughton et al., 2000). Não existe relação entre a filogenia de micro e de macrossimbiontes, uma vez que um mesmo gênero de bactéria pode nodular várias tribos (e até gêneros) de Leguminosae e uma mesma tribo/gênero pode ser nodulada por vários gêneros de bactéria (Moreira et al., 1993, 1998). Apesar dos diversos gêneros de BFNNL já terem sido isolados no Brasil, o gênero *Bradyrhizobium* destaca-se, uma vez que boa parte das espécies florestais e herbáceas (forrageiras, grãos, adubação verde) nativas tem espécies desse gênero como microsimbionte. Sua ampla ocorrência nessas simbioses conflita com relatos de diversos autores indicando que *Bradyrhizobium* foi introduzido no Brasil com os primeiros inoculantes vindos dos EUA para a soja.

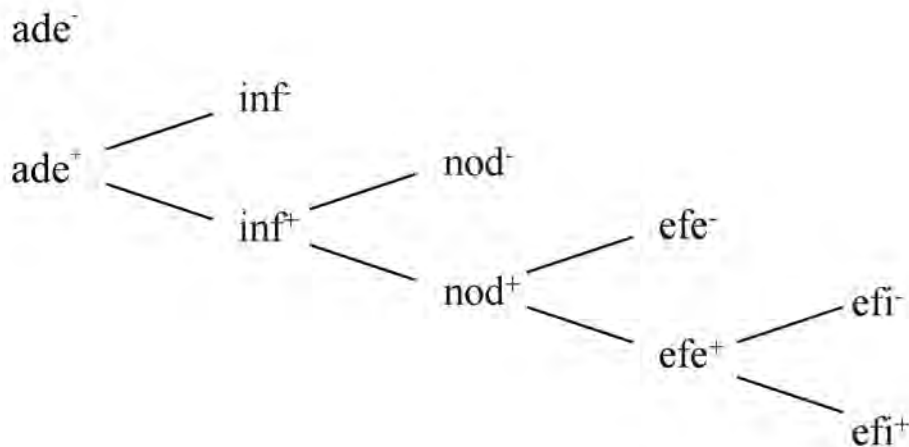


Figura 9.14. Possibilidades de interação entre bactérias fixadoras de N_2 nodulíferas e leguminosas: ade = aderência entre superfície das raízes de bactérias; inf = infecção da raiz pela bactéria; nod = formação do nódulo; efe = fixação biológica de N_2 (FBN) efetiva; efi = eficiência superior da FBN; + positiva; - negativa.

Como já mencionado, os genes de nodulação e fixação de nitrogênio de *Bradyrhizobium* são localizados no cromossomo, tornando essas características mais estáveis. Como exemplo, a estirpe INPA 3-11B identificada como *Bradyrhizobium*, isolada e selecionada para caupi (vasos de Leonard) em 1982 na Amazônia, não perdeu sua superior eficiência simbiótica, mesmo 25 anos após seu armazenamento em culturas liofilizadas, quando foi submetida a outras etapas de seleção que culminaram com sua indicação como inoculante de caupi (Moreira, 2005). O mesmo fato ocorreu com as estirpes inoculantes de soja: SEMIA 587 e BR 29 (SEMIA 5019), pois essas têm sido utilizadas como inoculantes desde 1968 e 1979 respectivamente (Freire & Verneti, 1999). Já, estirpes de *R. leguminosarum* recomendadas previamente para feijão, como SEMIA 4064, V-23 e C-05 tiveram que ser substituídas, pois perderam sua característica de eficiência. Assim, a predominância de simbioses com *Bradyrhizobium* indica que a FBN em parcela significativa das espécies nativas brasileiras é mais promissora com relação ao seu manejo e que, portanto, temos um potencial imenso a ser explorado.

O reconhecimento inicial dos simbioses é realizado através de moléculas exsudadas pela planta que ativam os genes de nodulação (genes *nod*) da bactéria (Figura 9.15). Essas moléculas têm sido identificadas como flavonóides, chalconas, betaínas e isoflavonóides conjugados e também podem variar dependendo da espécie hospedeira (Tabela 9.24). Uma vez ativados os genes *nod*, começa a ocorrer a síntese dos chamados fatores *nod* identificados como lipoquitooligossacarídeos (LQO) de comprimentos variados que, por sua vez, induzem o início do processo de infecção no hospedeiro o qual leva à nodulação, desempenhando, portanto, papel importante na especificidade hospedeira.

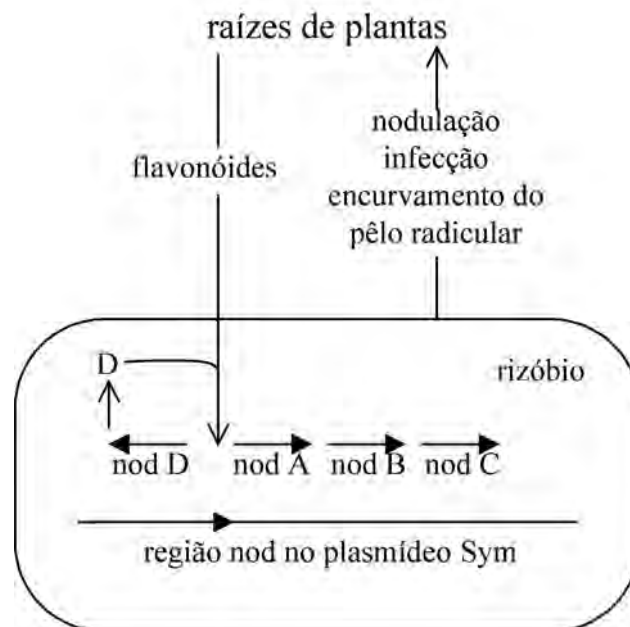


Figura 9.15. Ativação dos genes *nod* em rizóbio por flavonóides exsudados por leguminosas. (Siqueira et al., 1991b.)

Tabela 9.24. Exemplos de moléculas (flavonóides) em exsudatos de raízes de leguminosas que podem afetar interações simbióticas com microrganismos em sistemas agrícolas (Modificado de Dakora, 2003).

Leguminosas com rizóbio	Composto	Função	Referência
<i>Medicago sativa</i> (alfafa)	4, 4'-di-hidroxi-2'-metoxichalcona; 4'-7-Di-hidroxiflavona*; 4'-7-Di-hidroxiflavanona**	Indutor de gene nod	Maxwell et al. (1989).
<i>Vigna unguiculata</i> (caupi)	Daidzeína; Genisteína; Coumestrol	Indutor de gene nod	Dakora (2000).
<i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão comum)	Genisteína-3-O-glucosídeo; Eriodictiol, Naringenina	Indutor de gene nod	Hungria et al. (1991). Dakora et al. (1993).
<i>Macrotyloma georcarpum</i>	Daidzeína; Coumestrol	Indutor de gene nod	Dakora (2000).
<i>Glycine max</i> (Soja)	Isoliquiritigenina (2', 4', 4-tri-hidroxichalcona)	Indutor de gene nod	Kape et al. (1992). Smit et al. (1992).
<i>Vicia sativa</i> (Ervilhaca)	Genisteína; Genisteína-7-O-glucosídeo; Genisteína-7-O-(6''-O-malonilglucosídeo) Daidzeína; Daidzeína-7-O-(6''-O-malonilglucosídeo) 3, 5, 7, 3'-tetra-hidroxi-4'-metoxi-flavonona; 7, 3'-di-hidroxi-4'-metoxiflavonona; 2', 4', 4-tri-hidroxichalcona; 4', 4-di-hidroxi-2'-metoxichalcona, Naringenina Liquiritigenina; 7, 4'-di-hidroxi-3'-metoxiflavonona; 5, 7, 4-tri-hidroxi-3'-metoxiflavonona; 5, 7, 3'-tri-hidroxi-4'-metoxiflavonona 7, 4'-di-hidroxiflavona Umbelliferona, Formononetina	Indutor de gene nod	Recourt et al. (1991).
Trevo branco	Umbelliferona, Formononetina	Indutor de gene nod Inibidor de gene nod	Djordjevic et al. (1987).
<i>Vigna subterranea</i>	Daidzeína, Genisteína, Coumestrol	Indutor de gene nod	Dakora & Muofhe (1996).
<i>Sesbania rostrata</i>	4'-7-Di-hidroxiflavonona	Indutor de gene nod	Messens et al. (1991).
<i>Lupinus albus</i>	Ácido eritrônico, Ácido tetrônico	Indutor de gene nod	Gagnon & Ibrahim (1998).
Micorrizas arbusculares	Composto	Função	Referência
<i>Medicago sativa</i> (alfafa)	4', 7-di-hidroxiflavona 4', 7-di-hidroxiflavonona, Formononetina	Promotor de cresc. de hifas Inibidor de germinação de esporos	Tsai & Phillips (1991). Tsai & Phillips (1991).
Trevo branco	Formononetina, Biochanina A	Promotor de cresc. de hifas	Siqueira et al. (1991).

* **, Também denominadas daidzeína e liquiritigenina, respectivamente

A estrutura dos LQO não se correlaciona com a filogenia de BFNNL, mas com a faixa de hospedeiros de uma BFNNL em particular, corroborando seu papel na especificidade hospedeira. O estudo genômico das espécies vegetais *Medicago trunculata* e *Lotus japonicus* possibilitou a identificação de múltiplos genes necessários para respostas aos fatores *nod* e desenvolvimento dos nódulos, sendo alguns deles genes também necessários para o estabelecimento da simbiose com fungos micorrízicos, indicando que as simbioses com bactérias fixadoras e com fungos compartilham componentes comuns (Catoira et al., 2000; Geurts e Bisseling, 2002; Ané et al., 2004). Além dos LQO, outros compostos têm sido sugeridos como moléculas sinalizadoras, tais como hormônios (e.g. citocinina), ácido N-acetil glutâmico e diacilglicerol diglicosil. Similarmente aos compostos da planta que induzem os genes *nod* na bactéria, os fatores *nod* da bactéria também induzem expressão gênica específica na planta hospedeira análoga. No processo de aderência, ou seja, de interação das superfícies da bactéria e do hospedeiro, estão envolvidos diferentes tipos de polissacarídeos extracelulares (PSE) das BFNNL (**Figura 9.16**) e moléculas com propriedades antigênicas de reação cruzada, identificadas como lectinas em algumas espécies de leguminosas (**Figura 9.17, Tabela 9.25**). As lectinas são muito específicas e, em sistemas compatíveis, capazes de promover o reconhecimento dos parceiros da simbiose, garantindo, assim, a interação física entre si (= aderência da bactéria à superfície radicular). O papel das lectinas em processos de reconhecimento celular é bem documentado. Embora esse mecanismo não seja conhecido ou estudado em todas as leguminosas, nos casos bem trabalhados, como *R. l. bv. trifolii* e trevo branco, lectinas conhecidas como trifolinas têm alta especificidade por PSE, aos quais se ligam na superfície da bactéria. Estirpes sem esses carboidratos não são reconhecidas por plantas de trevo e, portanto, não aderem à sua superfície e, conseqüentemente, não nodulam.

O processo de infecção pode ser através da epiderme, de feridas ou de pêlos radiculares, sendo, nos dois primeiros, com ou sem cordões de infecção. A **figura 9.18** ilustra o processo mediante pêlos radiculares por cordões de infecção que ocorre por meio dos seguintes passos: multiplicação das bactérias ao redor do pêlo, ligação das bactérias ao pêlo, encurvamento dos pêlos, infecção seletiva do hospedeiro, formação e crescimento do cordão de infecção e liberação das bactérias nas células do córtex. A razão entre células infectadas e não infectadas pode variar e, além disso, podem ou não sofrer mitose. Finalmente, os nódulos assim formados podem ser de crescimento determinado (esféricos) ou indeterminado (em diferentes formas alongadas ramificadas ou não), dependendo da posição do meristema (**Figura 9.10**). Sprent (2000) fornece informações sobre o tipo de nódulo em quase todos os gêneros de Leguminosae nodulíferos conhecidos até o momento e indica que, por serem a forma e anatomia do nódulo, quase completamente determinadas pelo hospedeiro, podem servir como característica de valor taxonômico nas 3 sub-famílias. Portanto, o tipo de nódulo não tem relação com o microsimbionte. Como exemplo, podemos encontrar nódulos de crescimento indeterminado em simbioses de *Rhizobium* spp. e *Leucaena leucocephala*, *Azorhizobium doebereineriae* (syn. *A. johannae*) e *Sesbania virgata* (Gonçalves & Moreira, 2004), *Bradyrhizobium* sp. e *Swartzia schomburkii*, e *Bradyrhizobium* sp. e *Enterolobium schomburkii* (Moreira, 2006). Os nódulos indeterminados de *Leucaena* spp. também podem ser formados por espécies de outros gêneros como *Sinorhizobium* e *Mesorhizobium* (Moreira et al., 1998). Nódulos de crescimento determinado podem ser classificados em: aeschinomenóides e desmodióides, que diferem quanto a sua forma (oblongos ou esféricos), sítio de infecção (feridas onde raízes laterais/adventícias emergem ou pêlos radiculares) e razão entre células infectadas/não infectadas (poucas e muitas células não infectadas).

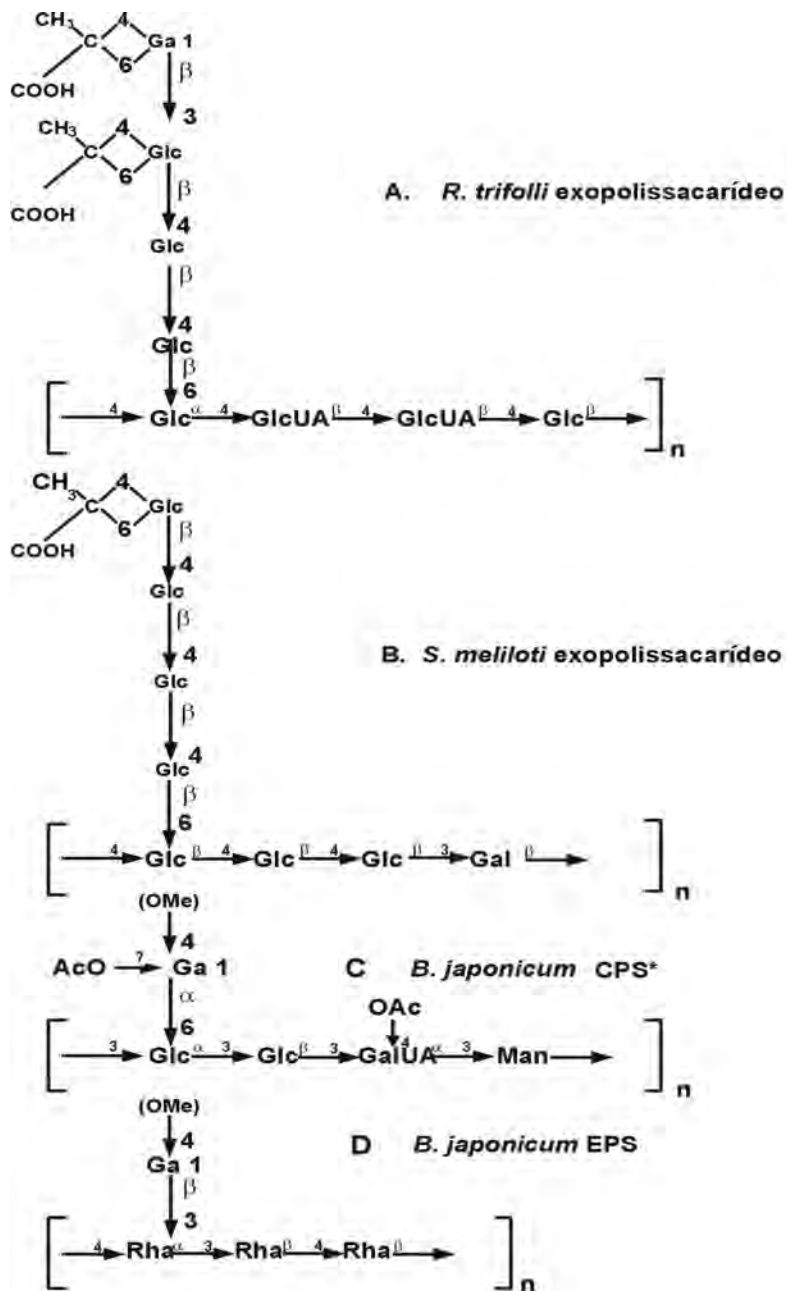


Figura 9.16. Estrutura primária de exopolissacarídeos de espécies de rizóbio. Glc = D-glicose; Gal = D-galactose; Man = D-manose; Rha = L-rhamnose; GlcUA = ácido D-glucorônico; GA1 UA = ácido D-galacturônico; Ac = acetato; Me = metil, CH₃C(4,6) COOH = piruvato ligado a acetal. (Bauer, 1981.)

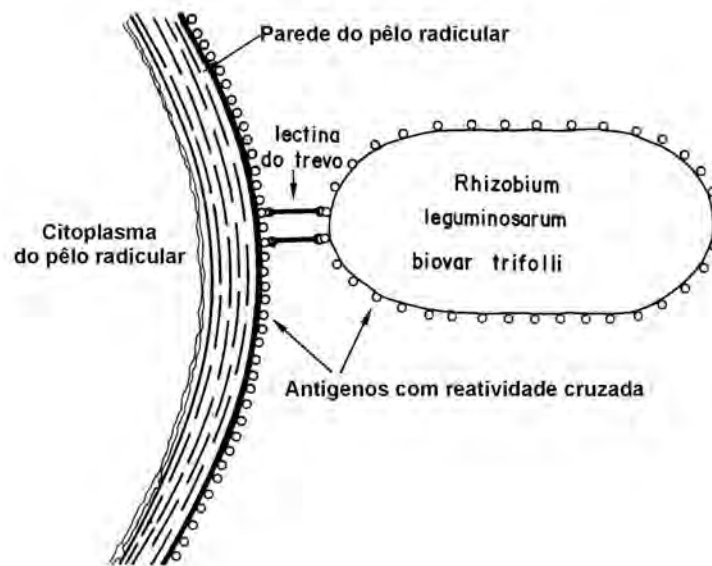


Figura 9.17. Adsorção de bactérias que nodulam leguminosas em raízes de trevo. (Dazzo & Hubbell, 1975.)

Tabela 9.25. Exemplos de lectinas e seletividade de ligação de bactérias à superfície de plantas.

Lectina	Seletividade de ligação	Fonte
Lectina de ervilha	Manose e Glicose	<i>Pisum sativum</i> Sementes Raízes
Lectina de batata	Oligossacarídeos de N-acetil-D-glucosamina	<i>Solanum tuberosum</i> Tubérculos de muitas variedades Frutos? Folhas?
Lectina de soja	N-acetil-D-galactosamina	<i>Glycine max</i> Sementes de muitas variedades Raízes de uma variedade <i>Glycine soja</i> Sementes de algumas variedades
Trifoliina A	DGlc, quinovosamina, N-acetil-D-galactosamina	<i>Trifolium repens</i> Sementes de uma variedade Raízes de uma variedade

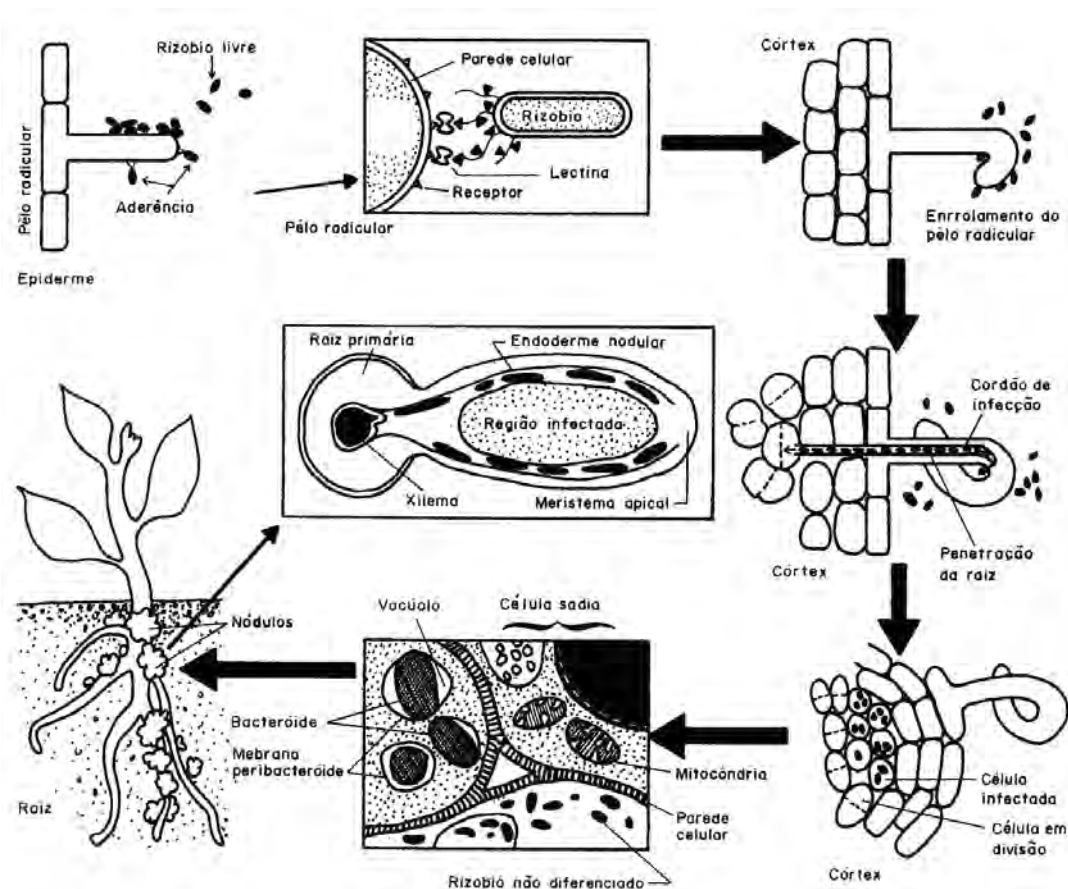


Figura 9.18. Etapas da infecção de leguminosas por rizóbio através de pêlos radiculares.

Os de crescimento indeterminado podem ainda apresentar duas categorias adicionais: lupinóides, quando a infecção geralmente não é por pêlos radiculares, e primitivos, quando as células bacterianas não são liberadas dos cordões de infecção.

Faria & Sprent (1994) desenvolveram uma hipótese evolucionária para as simbioses de BFNN com leguminosas, considerando o tipo de infecção e o padrão de desenvolvimento dos nódulos (**Tabela 9.26 e 9.27**). De acordo com essa hipótese, a evolução da simbiose segue também o padrão de evolução de Leguminosae, ou seja, leguminosas mais primitivas (principalmente Caesalpinioideae) apresentam padrão de desenvolvimento de nódulos mais primitivos, como o tipo de crescimento indeterminado (como os de várias espécies florestais – e.g. *Swartia schomburgkii*), além de baixa razão entre células infectadas e não infectadas. Nódulos de crescimento determinado (redondos como os de soja e feijão) com alta razão entre células infectadas e não infectadas, assim como a ausência de cordões de infecção (considerados um mecanismo de defesa da planta à entrada das bactérias) e mitose das células infectadas são características de espécies mais evoluídas das Papilionoideae, como *Arachis* spp. e *Lupinus* spp.

508 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.26. Exemplos de como as plantas reagem à invasão por rizóbio (Faria & Sprent, 1994).

Infecção por rizóbio (raiz ou caule)	Desenvolvimento do nódulo			Sem C.I.; mitose das células infectadas
	Cordão de infecção (C.I.) persistente	C.I. não persistente	C.I. e mitose das células infectadas	
Via C.I.				
Epiderme	<i>Parasponia</i> spp.	<i>Mimosa scabrella</i>	não	Não
Pêlos radiculares	<i>Dimorphandra jorgei</i>	<i>Leucaena leucocephala</i>	<i>Glycine max.</i>	Não
Feridas	não	não	<i>Sesbania rostrata</i>	Não
Epiderme e pêlos	não	não	<i>Phaseolus lunatus</i>	Não
Feridas e pêlos	não	não	<i>Erythrina speciosa</i>	Não
Sem C.I.				
Epiderme	não	não	não	<i>Lupinus</i> spp.
Feridas	não	não	não	<i>Arachis</i> spp.

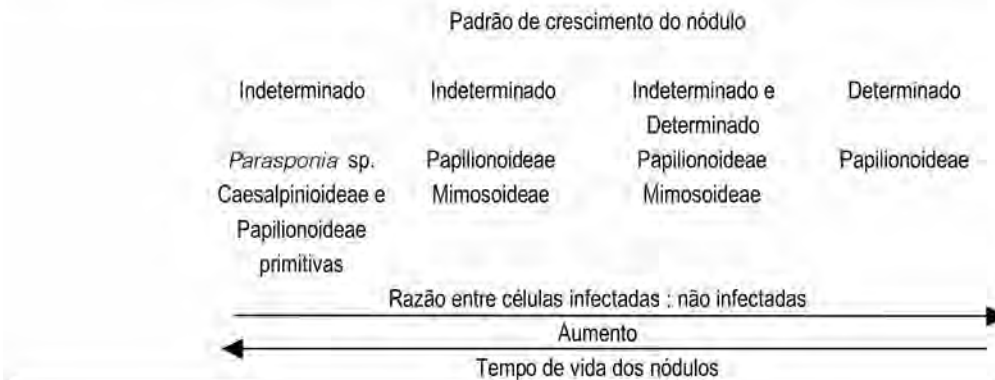


Tabela 9.27. Tipo de nódulo e relatos de ureídeos como produtos de exportação dos nódulos de gêneros, espécies e tribos de Leguminosae.

Gênero/espécie (nome vulgar)	Tipo Nódulo**	Ureídeos	Tribo
<i>Acacia mearnsii</i>		M*	Acacieae
<i>Acacia</i> 6 spp. do subgênero <i>Phyllodineae</i>		0	
<i>Albizia</i> 3 spp.		m* ou 0	Ingeae
<i>Calliandra</i> spp.		0	
<i>Leucaena</i> spp.		0	Mimoseae
<i>Mimosa pigra</i>		0	
<i>Arachis hypogaea</i> (amendoim)	Ae	0	Aeschynomeneae
<i>Stylosanthes hamata</i>	Ae	m	
<i>Zornia</i> spp.	Ae	0	
<i>Cicer arietinum</i> (grão-de-bico)		0	Cicereae
<i>Ornithopus sativus</i> (serradela)		0	Coronilleae
<i>Desmodium</i> 4 spp. (desmódio)	D	M	Desmodieae
<i>Lespedeza thunbergii</i>	D	M	
<i>Lupinus</i> 4 spp. (tremoços)	L	0	Genisteae
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>		M*	Indigoforesae
<i>Cajanus cajan</i> (guandu)	D+	M	Phaseoleae
<i>Calopogonium caeruleum</i> (calopogônio)	D	M	
<i>Canavalia ensiformis</i> (feijão-de-porco)	D+	M	
<i>Centrosema</i> spp.	D	M	
<i>Erythrina</i> 2 spp.	D+	m	
<i>Flemingia congesta</i>	D	m	
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (siratro)	D	M	
<i>Phaseolus</i> 2 spp. (feijão)	D	M	
<i>Psophocarpus tetragonoloba</i> (feijão-de-asa)	D+	M	
<i>Pueraria</i> 2 spp.	D	M	
<i>Vigna</i> 7 spp.	D	M	
<i>Gliricidia</i> spp.		m ou 0	Robineae
<i>Robinia pseudoacacia</i>		0	
<i>Sesbania grandiflora</i>		M* ou 0	
<i>Sesbania</i> 2 spp.		m* ou 0	
<i>Medicago</i> 2 spp.		0	Trifolieae
<i>Trifolium</i> 3 spp. (trevo)		0	
<i>Lathyrus</i> 3 spp.		0	Viceae
<i>Lens</i> 2 spp.		0	
<i>Pisum sativum</i> (ervilha)		m* ou 0	
<i>Vicia</i> 2 spp. (ervilhacas)		m* ou 0	

* Algumas ou todas as observações utilizaram o método não modificado de Young & Conway (1942), possivelmente superestimando assim a quantidade de ureídeos produzidos. **| = indeterminado, L = indeterminado lupinoide; Determinados: D = desmódioide, D+ = desmódioide podendo tornar-se lobado, Ae = aeschinomenoide, *** M = principal componente (pelo menos 40%), m = componente em menor proporção; 0 = ausente. [Adaptado da revisão de Sprent (2000) baseada em vários autores].

Genes do hospedeiro especificamente expressos durante a formação (infecção e desenvolvimento) e funcionamento dos nódulos são chamados de “genes de nodulinas” e se dividem em duas classes: os “genes precoces” e “os genes tardios”, respectivamente, aqueles envolvidos na infecção e formação do nódulo e os envolvidos no funcionamento do nódulo. A expressão desses genes, por sua vez, leva à produção de nodulinas, proteínas vegetais que se acumulam especificamente nos nódulos e têm funções específicas no processo de FBN. No último passo do estabelecimento da simbiose, ou seja, a fixação biológica de nitrogênio, estão envolvidas nodulinas mais conhecidas como a leg-hemoglobina e enzimas envolvidas no processo de assimilação do nitrogênio fixado como a glutamina sintetase e o glutamato sintase (**Figuras 9.19 e 9.20**). A leg-hemoglobina tem a importante função de transportar oxigênio em taxas suficientes para o metabolismo aeróbio dos bacteróides, sem excessos que possam inibir a atividade da nitrogenase.

O custo energético da FBN, ou seja, a eficiência do processo em termos de fotossintatos consumidos, pode variar de 20 (menos eficiente) a 0,3 g (mais eficiente) C g⁻¹ N fixado, sendo que um grande frequência é encontrada entre 6 e 8 g C g⁻¹ N, o que corresponde a 1,2-1,5 mol de glicose por mol de NH₃. Essa avaliação é feita, medindo-se a respiração dos nódulos e a atividade da enzima nitrogenase. Durante a reação de redução do N₂, o H₂ produzido pode ser reciclado através de hidrogenase oxidativa, levando a síntese de 2 a 3 ATP e reduzindo o custo energético da FBN. Estirpes Hup⁺, ou seja, as que possuem essa hidrogenase, geralmente são mais eficientes que as que não a possuem, denominadas Hup⁻. Quanto às vias de assimilação da amônia, são conhecidas atualmente duas (Figura 9.19 e 9.20). Essas diferem não apenas nos produtos exportados dos nódulos para o caule e para as folhas, via xilema, como também no custo energético desse transporte. Estimou-se que a relação C: N é cerca de 1:1 quando ureídeos (alantoínas e ácido alantóico) são os carboidratos transportados, e cerca de 2:1 quando amino-compostos (principalmente asparagina e glutamina), o que significa um custo energético menor da FBN. Embora essa informação seja disponível para um número reduzido de espécies (Tabela 9.27), elas indicam uma tendência de que a via de amino-compostos ocorre com maior frequência entre leguminosas temperadas, como ervilha, trevo e amendoim, e a via de ureídeos com maior frequência em leguminosas tropicais, como o caupi e o feijão.

9.8.5. Fatores limitantes a FBN em leguminosas

Diversos fatores biológicos, químicos e físicos, podem interferir nos diversos passos que levam à simbiose mutualista (**Tabela 9.28**). Assim, a ausência de nodulação ou nodulação ineficiente em determinada espécie sob determinadas condições edáficas e ambientais, é decorrente de fatores limitantes ao estabelecimento, desenvolvimento e funcionamento da simbiose (Freire, 1984). Tanto os fatores bióticos como os abióticos podem atuar sobre a bactéria e/ou sobre o hospedeiro, afetando a simbiose, e seus efeitos também podem variar, dependendo das espécies simbiotes envolvidas. A simbiose do feijão (*Phaseolus vulgaris*) com seus diferentes microssimbiontes (Tabela 9.20) exemplificará parte significativa dos fatores limitantes descritos a seguir, que comprometem a maximização do processo nessa importante cultura.

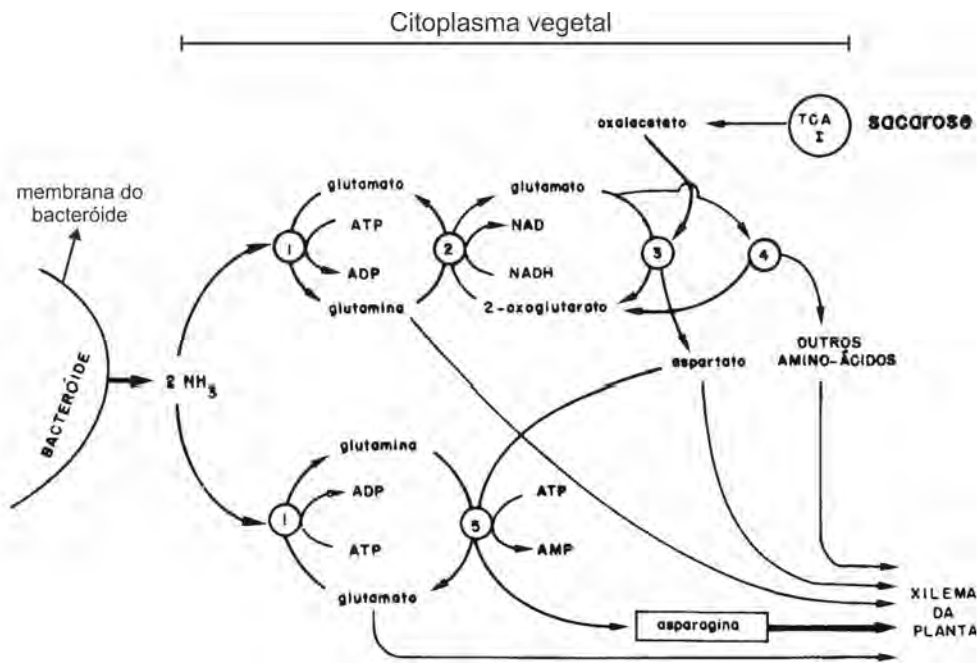


Figura 9.19. Vias de assimilação de NH_3 em produtos de exportação em nódulos de lupinos, ervilha, trevo, alfafa e amendoim (Modificado de Bergensen, 1982, e Siqueira & Franco, 1988). Enzimas: 1. Glutamina sintetase; 2. Glutamato sintase (GOGAT); 3. Aspartato aminotransferase; 4. Outras transferases; 5. Asparagina sintetase.

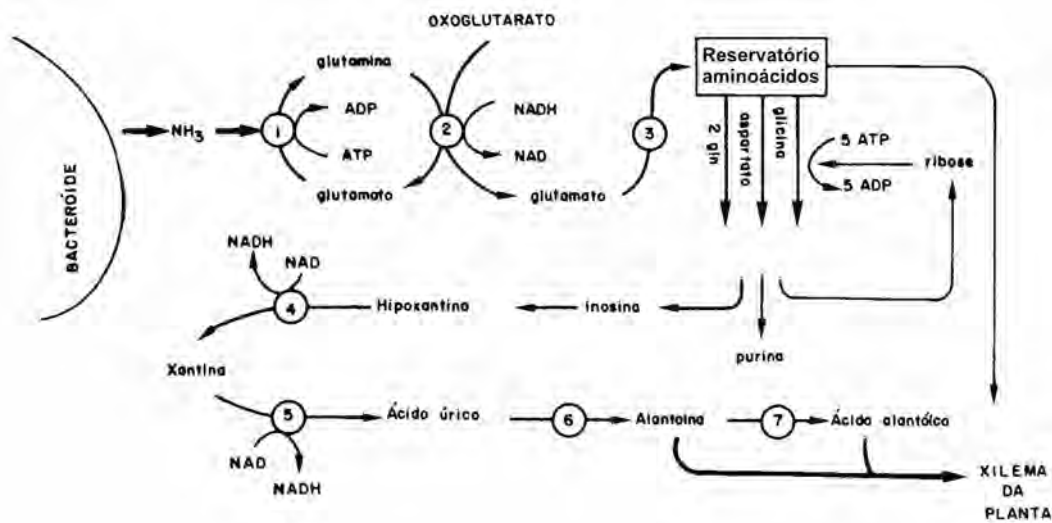


Figura 9.20. Vias de assimilação de NH_3 em produtos de exportação em nódulos de caupi, feijão e guandu (Modificado de Bergensen, 1982, e Siqueira & Franco, 1988). Enzimas: 1. Glutamina sintetase; 2. Glutamato sintase (GOGAT); 3. Aminotransferases; 4. Nucleotidase; 5. Xantina desidrogenase; 6. Uricase; 7. Alantoinase.

512 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.28. Influência do ambiente sobre a nodulação de leguminosas (Adaptada de Vincent, 1980).

Estádio fenotípico (código)	Exemplos de efeitos (diretos e interagindo)
	I. Pré-infecção
a. Multiplicação e colonização da superfície radicular (roc)	Secreções do hospedeiro (estimulando/inibindo) Microorganismos associados pH Cátions divalentes Químicos tóxicos
b. Adsorção às raízes (roa)	Ca ⁺⁺
c. Ramificação dos pêlos radiculares (hab)	* { NO ₃ ⁻ Fotossintatos
d. Encurvamento dos pêlos radiculares (hac)	pH
	II. Infecção e formação dos nódulos
e. Infecção (inf)	pH NO ₃ ⁻ : Fotossintatos Temperatura
f. Desenvolvimento do cordão de infecção (noi)	Ca ⁺⁺ Temperatura
g. Liberação dos bacteróides para as células do hospedeiro (bar)	Temperatura
h. Desenvolvimento dos bacteróides (bad)	Temperatura ótima
	III. Função do nódulo
i. Fixação de nitrogênio (nlf)	NO ₂ ⁻ Molibdênio
j. Funções bioquímicas e fisiológicas associadas a FBN (cof)	NO ₂ ⁻ Fotossintatos CO ₂ , O ₂ , H ₂ O, S, Ca, K, P
l. Manutenção e funcionamento do nódulo (nop)	Fotossintatos CO ₂ , B, NO ₃ ⁻ , etc. Temperatura

* Interagindo.

Os fatores limitantes das simbioses BFNN-leguminosas, detalhados a seguir, podem ser agrupados em:

- a) características intrínsecas da espécie hospedeira;
- b) edáficos;
- c) climáticos;
- d) população nativa de BFNNL.

Características intrínsecas da espécie hospedeira

Como mencionado, existem informações sobre a capacidade de nodular apenas de 23% das espécies de Leguminosae (considerando o número total de 16.567 espécies na família), nodulando, destas, 88% (3.400) e 12% (464) não nodulando. Portanto, a capacidade de nodulação de cerca de 11.200 espécies é completamente desconhecida. Nesse caso, um método que pode ser empregado para verificar se uma espécie sem referências na literatura, com relação a essa característica, é capaz ou não de nodular, é cultivá-la em substratos naturalmente férteis ou adubados procedentes de diferentes plantios ou de ecossistemas naturais onde predominem leguminosas nodulíferas, evitando adubação nitrogenada ou excesso de matéria orgânica que podem inibir a nodulação (ver item seguinte). Também pode ser feita uma inoculação com mistura de estirpes oriundas de outras espécies (Magalhães et al., 1982; Faria et al., 1984 a e b, 1987; Moreira et al., 1992; Moreira, 1997).

Entre as espécies nodulíferas, existe ampla variação com relação ao potencial de FBN que pode ser classificado como baixo, médio e alto. Como exemplo, nas mesmas condições *Leucaena leucocephala* e *Gliricidia sepium* podem fixar de 200 a 300 kg de N, enquanto *Acacia (Faidherbia) albida* apenas 20 a 30 kg de N (Sanginga, 1992). Assim, as primeiras têm alto potencial e, a última, baixo potencial. A proporção de N fixado pode ser afetada ainda pelo genótipo e idade da planta. Variações entre 20 e 68% do conteúdo de nitrogênio na planta sendo derivado do N do ar - Ndfa (i.e. FBN) foram encontradas entre diferentes procedências de *Gliricidia*, enquanto para plantas de *Leucaena leucocephala* e *Acacia albida* a variação encontrada foi de 37 a 74% e 6 a 37% respectivamente. Em feijão, encontram-se diferenças significativas entre 9 linhagens, cuja FBN variou de 18 a 51 kg N ha⁻¹, sendo as plantas que fixavam mais nitrogênio as que nodulavam mais rapidamente após a germinação das sementes (nodulação precoce) (Kipe-Nolt et al., 1993). Experimentos desenvolvidos com vários genótipos em cada um dos 7 países, em um programa de pesquisa coordenado pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA)/FAO, mostraram, através do método de diluição do isótopo ¹⁵N, grande variação do N derivado da atmosfera (0-73% Ndfa) entre genótipos, o que correspondeu a valores de 0 a 165 kg de N ha⁻¹. Quando as condições ambientais eram favoráveis, os valores médios encontrados foram de 35 a 70% Ndfa. Os autores corroboraram dados de outros autores, mostrando, também, que os genótipos de crescimento indeterminado e trepadores fixavam mais nitrogênio que as de hábito determinado ou de porte arbustivo e que os de ciclo mais longo (cultivares tardias também chamadas de maturação tardia) fixavam mais que as de ciclo mais curto (cultivares precoces também chamadas de maturação precoce) (Hardarson et al., 1993). Esses resultados indicam um bom potencial de recursos genéticos

para o melhoramento do feijoeiro visando ao aumento da contribuição da FBN.

A promiscuidade do hospedeiro também pode ser um fator limitante à FBN. *Phaseolus vulgaris*, por exemplo, nodula com, pelo menos, 12 espécies de rizóbio (*Rhizobium leguminosarum* bvs *phaseoli*, *trifolii* e *viceae*, *R. tropici*, *R. etli*, *R. giardinii*, *R. gallicum*, *R. mongolense*, *R. yanglingense*, *Sinorhizobium fredii*, *S. americanum*, *A. doebereineriae*, *Mesorhizobium loti* e *M. huakuii*) (Tabela 9.20) e pode também ser nodulado por *Burkholderia* spp. (Moreira et al., 2002) e *A. caulinodans* (Gonçalves & Moreira, 2004). Considerando, ainda, a variação quanto à eficiência dentro de cada uma dessas espécies, a introdução de estirpes eficientes selecionadas que possam competir pelos sítios de infecção com a população nativa, que é altamente diversa e geralmente ineficiente, deve ser feita com maiores cuidados, como, por exemplo, com atenção relativa ao número de células no inoculante, de modo que um número mais elevado confira à população introduzida uma vantagem competitiva.

Informações mais detalhadas sobre as características e diferenças entre as estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bvs *phaseoli*, *R. tropici*, *R. etli*, *R. giardinii* e *R. gallicum*, podem ser encontradas na revisão apresentada por Stralioto e Rumjanek (1999).

pH associado ou não a toxicidade por Al e Mn

A acidez e a toxicidade de alumínio e manganês, fatores comumente encontrados nos solos tropicais, podem afetar negativamente as simbioses de rizóbio com leguminosas (Carvalho, 1978; Munns & Franco, 1981); esse efeito, porém, varia de acordo com a espécie vegetal e com a estirpe envolvidas na simbiose. A nodulação e a FBN parecem ser mais sensíveis ao Mn do que as plantas, havendo diferenças de tolerância entre variedades vegetais e influência da estirpe de BFNNL na absorção de Mn pelas plantas (Franco & Döbereiner, 1971). Valores de pH abaixo de 5,5, assim como concentrações de Al maiores que 10 µM em solução, reduzem, drasticamente, a nodulação do feijoeiro, (**Figura 9.21**), tornando necessário o uso de calagem. Sua aplicação de calagem pode aumentar a população de BFNN, como no caso de *R. phaseoli* em alguns solos como Latossolo-Vermelho Escuro distrófico do Rio Grande do Sul (**Figura 9.22**). O número de isolados de rizóbio capaz de nodular o feijoeiro em solos de cerrado foi muito maior na faixa de pH entre 5,5 e 6 (Araújo, 1994). Para simbioses de rizóbio com leguminosas arbóreas tropicais, observou-se alta frequência de estirpes de rizóbio tolerantes a pH ácido (Silva & Franco, 1984; Souza et al., 1984; Moreira, 1991; Lesuer et al., 1993). Alguns resultados sugerem que altas concentrações de alumínio, mais do que a acidez (pH 4,5), são o principal fator de seleção para estirpes de *Bradyrhizobium* manterem-se em altas populações em condições naturais, e demonstram tolerância de algumas estirpes até a 100 µM de AlCl₃ em meio de cultura líquido. Outros atribuem à toxicidade, maiores efeitos do íon H⁺ em detrimento de Al e Mn (Cline & Kaul, 1990). Para rizóbio isolado de espécies arbóreas, verificou-se maior frequência de estirpes tolerantes à acidez (pH 4,5) em meio sólido nas Caesalpinioideae (85,7%) e menor frequência nas Papilionoideae (28,8%). As Mimosoideae apresentaram 48,8% de estirpes tolerantes. Estirpes de crescimento rápido são geralmente menos tolerantes à acidez do que as de crescimento lento. A procedência da estirpe pode, porém, ser mais importante na sua relação de tolerância do que a característica de crescimento, ou seja, estirpes isoladas de solos ácidos

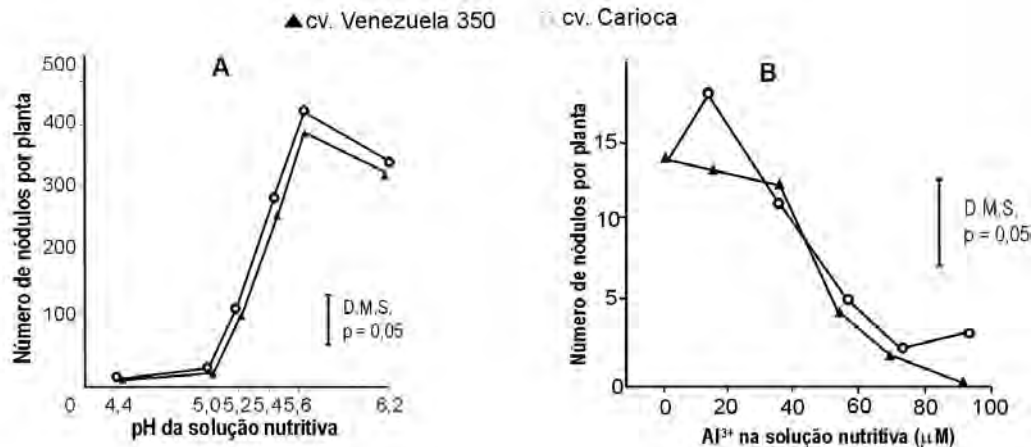


Figura 9.21. Efeito do pH e do alumínio na nodulação de *Phaseolus vulgaris* (feijão) em solução nutritiva. (Franco & Munns, 1982 a e b.)

mostram-se mais adaptadas a essas condições do que as isoladas de pH mais elevado (Moreira, 1994b). Isso pode ser explicado pelo fenômeno denominado “acid habituation” (habituação à acidez) ou “adaptive tolerance response” (resposta de adaptação à tolerância), segundo Dilworth et al. (1999). Esses autores demonstraram que a sobrevivência de microrganismos que cresceram em condições levemente ácidas (5,8) e foram, posteriormente, expostos a baixos valores de pH (4,0), é significativamente maior do que se fossem previamente crescidos em condições ótimas (pH 7,0). A produção de inoculantes para uso em condições de solos ácidos deveria considerar esse fenômeno, pois, atualmente, os inoculantes são produzidos com pH próximo da neutralidade, o que pode estar sendo mais uma limitação na adaptação das estirpes às condições de acidez dos solos tropicais. Estirpes de *Bradyrhizobium*, recomendadas como inoculantes para soja (BR 29, SEMIA 587), caupi (INPA 03-11B) e *Enterolobium* spp. (BR 4406), oriundas de solos ácidos tropicais, têm melhor crescimento em meio de cultura e sobrevivência em turfa, ambos corrigidos para pH 6,0 do que 7,0, demonstrando a possibilidade de uso de inoculantes com esse valor de pH (Figura 9.23). Encontrou-se, também, relação entre tolerância à acidez e maior produção de exopolissacarídeos nessas estirpes, corroborando resultados anteriores para outras estirpes (Cunningham & Munns, 1984). Outras espécies tropicais de diazotróficos, como *A. amazonense*, têm também pH ótimo para crescimento em torno de 6,0 (Magalhães et al., 1983). Outro ponto a considerar é que o pH do meio geralmente usado para isolamento de rizóbio é 7,0; por isso, pode estar ocorrendo uma seleção contra estirpes mais adaptadas à acidez. Alguns trabalhos têm verificado que o uso de valores de pH baixos no meio de isolamento possibilita a obtenção de estirpes que não crescem em pH 7,0 (Halliday & Abelli, 1981; Souza et al., 1984; Moreira, 1991).

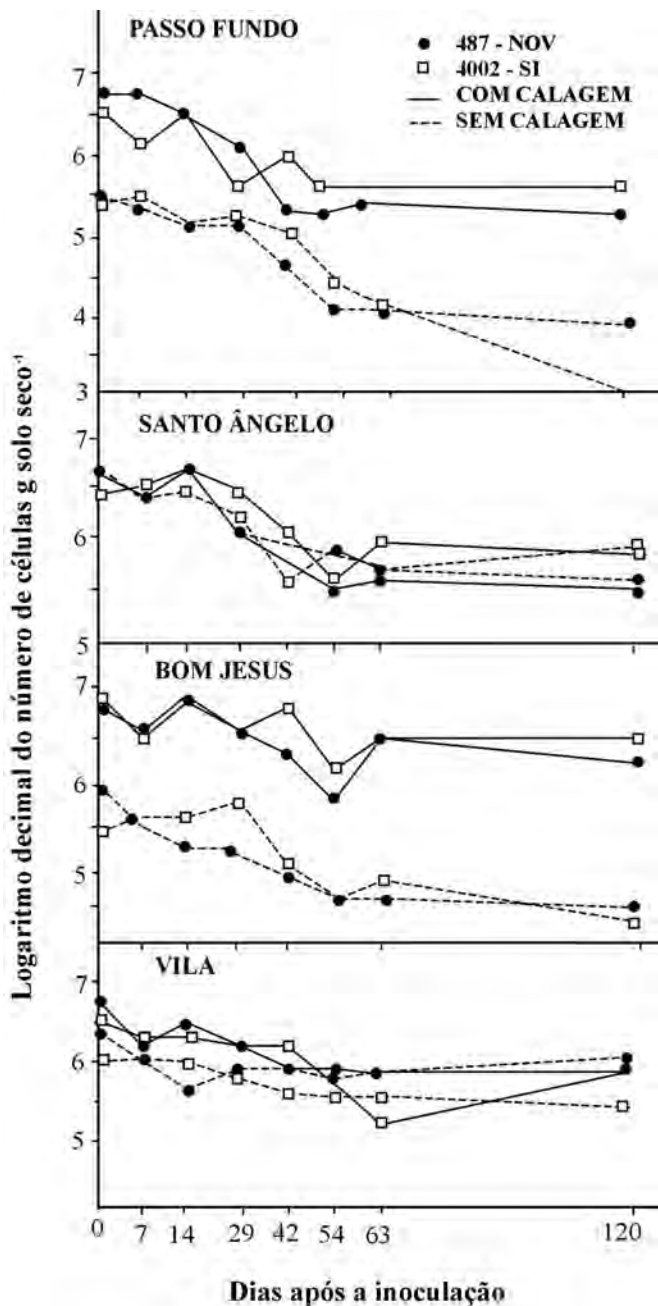


Figura 9.22. Flutuação populacional de mutantes espontâneos de *Rhizobium phaseoli* 487-NOV e 4002-S1 nos solos de Passo Fundo, Santo Ângelo, Bom Jesus e Vila, com e sem calagem (Lovato et al., 1985). Nomenclatura da espécie bacteriana, existente na época do trabalho, modificada posteriormente.

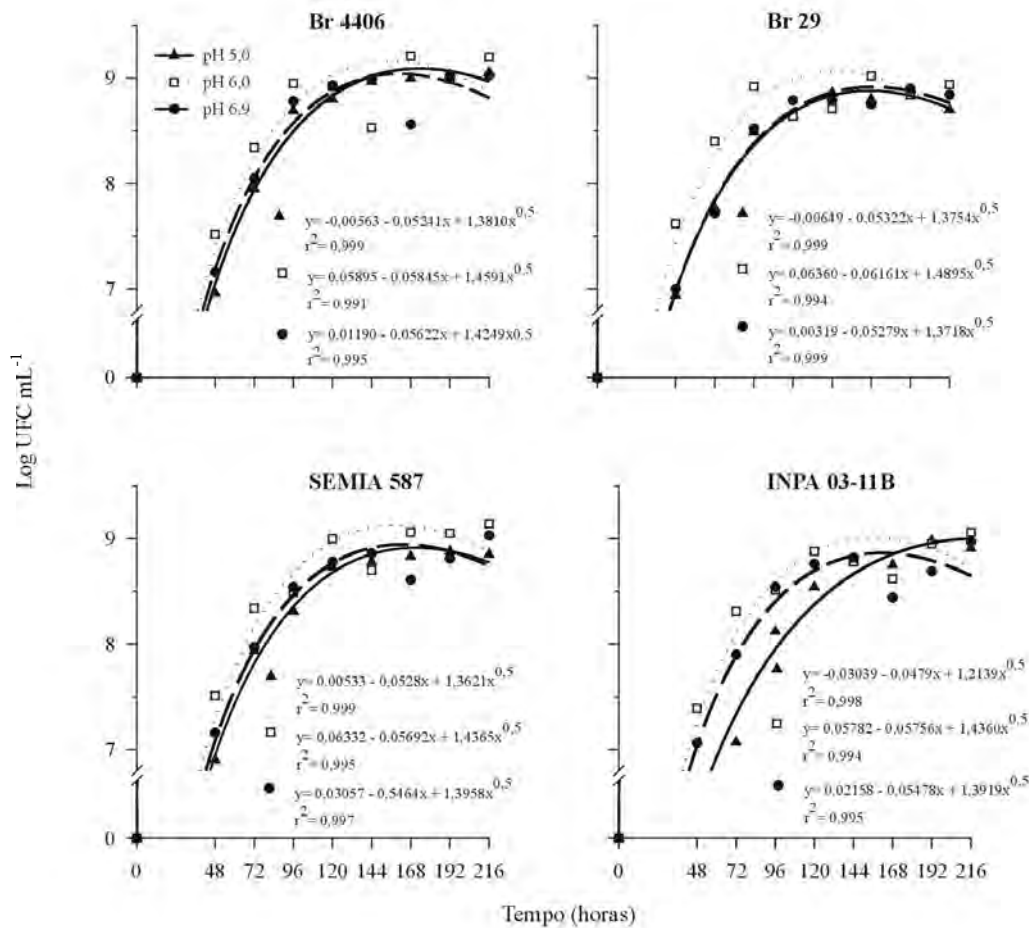


Figura 9.23. Crescimento de estirpes de *Bradyrhizobium* em meio YMA líquido com diferentes valores de pH. (Miguel & Moreira, 2001.)

O hospedeiro pode ser mais afetado pela acidez do que a bactéria. *Acacia mangium*, *Faidherbia (Acacia) albida* e *Leucaena* spp. são afetadas pela acidez do meio (pH = 4,5), podendo existir diferenças significativas entre as procedências de uma mesma espécie com relação a essa suscetibilidade (Hutton, 1984, e Lesuer et al., 1993). Essas espécies, porém, são originárias de solos com valores de pH mais elevados, o que pode torná-las menos adaptadas à acidez. Ribeiro Júnior et al. (1986, 1987) mostraram que tanto *Albizia lebbek* como *Enterolobium contortisiliquum*, apesar de responderem à calagem em Latossolo vermelho-amarelo, apresentavam bom vigor em condições ácidas (pH = 4,5) e apontaram o aumento do pH rizosférico como um possível fator favorecendo tanto o estabelecimento de estirpes sensíveis à acidez em meio de cultura, como sua competitividade com estirpes nativas do solo. Genótipos vegetais capazes de nodular e sobreviver em condições de acidez do solo oferecem grande oportunidade para exploração da FBN em áreas onde a calagem não é exequível. Na Amazônia,

518 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

várias leguminosas nodulíferas desenvolvem-se e nodulam em solos com pH em torno de 4,0 indicando seu potencial para esse fim (Magalhães & Blum, 1984; Moreira et al., 1992). Franco & Munns (1982) assinalam que a acidez gerada na rizosfera dessas plantas pode ser benéfica, aumentando a disponibilidade de P para as plantas através da solubilização de rochas fosfatadas.

Estirpes tolerantes à acidez têm sido obtidas *in vitro*, assim como genes associados a essa característica identificados. No entanto, estirpes tolerantes à acidez podem ou não sobreviver melhor em solos ácidos do que as não tolerantes (Keyser et al., 1979), indicando a influência de outros fatores provavelmente relacionados à existência de micro-habitats com condições favoráveis.

Calagem e tolerância a antibióticos

Vários trabalhos têm indicado que a prática de calagem, para aumentar o pH e diminuir a disponibilidade de alumínio, também eleva a incidência de actinomicetos no solo e a proporção de bactérias, incluindo BFNNL, resistentes a antibióticos (Baldani et al., 1982; Scotti et al., 1982; Ramos et al., 1987; Vargas et al., 1992; Pereira, 1995), o que parece ser uma estratégia eficiente para superar relações antagonistas. A calagem também pode afetar a estrutura das comunidades de BFNNL. A riqueza e diversidade de espécies, analisadas por fragmentos de DNA (região intergênica 16S-23S rRNA), assim como a abundância de comunidades nodulando *Phaseolus vulgaris* em solos do Sul do Brasil aumentaram com a calagem, sendo as populações de *R. tropici* IIB as mais diversas nos solos que receberam calagem e as populações de *R. leguminosarum* as mais diversas nos solos com baixo pH (Andrade et al., 2002a, b).

Deficiências nutricionais

Fósforo é o fator mais limitante em solos tropicais. Por ser um elemento essencial às plantas, sua deficiência afeta, de modo generalizado, as simbioses de leguminosas (**Figura 9.24**). Nessa figura pode-se verificar que quando não se aplicou adubo fosfatado no solo para as quatro leguminosas estudadas, a redução da nodulação foi drástica. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) podem contribuir para a nutrição fosfatada de plantas (ver capítulo 10) e, no caso de leguminosas, efeitos sinérgicos entre BFNNL e fungos micorrízicos têm sido observados, evidenciando a importância dessa simbiose tripla em solos tropicais (Jasper et al., 1989; Herrera et al., 1993). O efeito sinérgico entre tais simbioses pode resultar em pressão seletiva exercida sobre as comunidades fúngicas. Scheublin et al. (2004) observaram que as comunidades de FMA apresentavam diferenças significativas entre leguminosas e não-leguminosas, entre espécies vegetais e entre partes do sistema radicular (raízes e nódulos). De Faria et al. (1995) observaram que o crescimento e a nodulação de espécies arbóreas foram estimuladas pela inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e que baixos teores de P foram suficientes para obter os maiores incrementos, indicando que as espécies estudadas tinham baixo requerimento de P. A resposta da FBN a P também pode variar entre genótipos de espécies arbóreas (Sun et al., 1992). Deficiência de outros macro e de micronutrientes pode ocorrer em determinados solos. Como exemplo, a adubação conjunta de K e Mg influenciou o aumento da nodulação de jacatupé em latossolo amarelo (**Figura 9.25**).

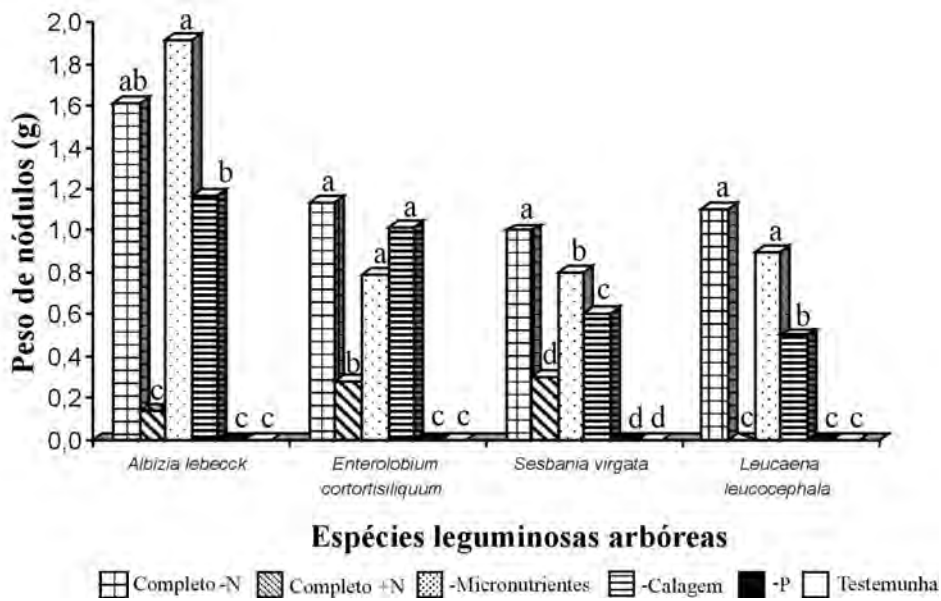


Figura 9.24. Peso de nódulos de quatro leguminosas arbóreas inoculadas com bactérias fixadoras de N₂ selecionadas e fungos micorrízicos arbusculares, em latossolo amarelo com diferentes fatores nutricionais limitantes. (Modificado de Moreira & Siqueira, 1995.)

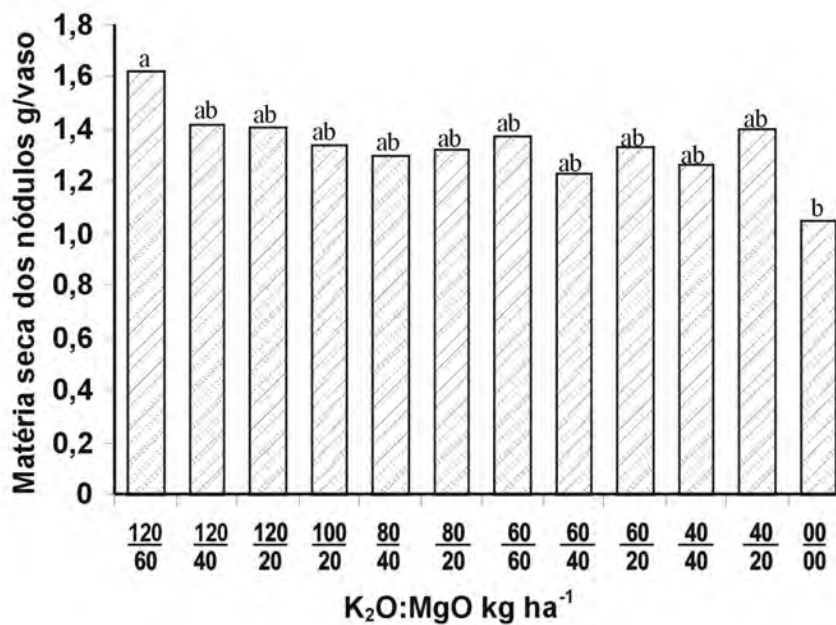


Figura 9.25. Matéria seca de nódulos de jacatupé [*Pachyrhizus erosus* (L) Urban] em função de diferentes fórmulas de adubação com potássio e magnésio. (Modificado de Figueiredo et al., 1996.)

Dentre os micronutrientes destaca-se o molibdênio por ser um constituinte da nitrogenase e da nitrato redutase. No entanto, tanto o Mo como o Co, em muitos casos, parecem ser supridos de forma eficiente para a FBN, tanto pelo solo como pelas sementes, tendo sua aplicação efeitos mais significativos sobre o rendimento das culturas (Franco & Munns, 1981). Portanto, respostas a esse micronutriente em *Phaseolus vulgaris* têm sido observadas (Franco e Day, 1980; Amane et al., 1999; Fullin et al., 1999). A correção do pH pela calagem também favorece a maior disponibilidade desses elementos (Franco & Day, 1980). Já, sua aplicação, na forma de sais, via semente, pode ter efeitos tóxicos sobre as BFNNL. Boro também é um elemento essencial para o desenvolvimento de nódulos e para a fixação biológica de N₂ (Yamagishi & Yamamoto, 1994). Azevedo et al. (2002) observaram resposta significativa na nodulação e atividade da nitrogenase dos nódulos em ervilha, a aplicação de boro em Gleissolo Háplico e Organossolo Mésico de várzea, mas não houve resposta em Neossolo Flúvico e Gleissolo Melânico.

Nitrogênio mineral

O excesso de N-mineral reduz, drasticamente, a nodulação das leguminosas (Figura 9.24), porque a nodulação ocorre em resposta às demandas nutricionais da planta. Na presença de N-mineral, tais demandas são reduzidas, não havendo, portanto, estímulo à nodulação. Em florestas em clímax, por exemplo, raramente são encontrados nódulos em leguminosas nodulíferas dadas as condições de equilíbrio no ambiente e ao nitrogênio, ou seja, os “inputs” através da decomposição da matéria orgânica ou, mesmo, pela água da chuva e sua ciclagem eficiente bastam para suprir as baixas demandas das plantas. Assim, espécies arbóreas podem ser mais afetadas pelo N combinado do que culturas anuais, porque ocorre ampla variação da FBN em virtude da idade e redistribuição do N na planta e no perfil do solo, em vista da mineralização da serrapilheira; mesmo assim, a aplicação de 40 a 80 kg de N pode reduzir 50% a FBN em *Leucaena leucocephala* (Sanginga et al., 1989). O grau de inibição pode variar de acordo com a fonte de N aplicada. Baixos níveis de nitrato diminuíram mais a produção de nódulos em *Acacia auriculiformis* do que baixos níveis de amônio (Goi et al., 1992). Já, pequenas doses de N podem beneficiar a FBN, funcionando como dose de arranque em determinadas culturas, principalmente naquelas que têm nodulação tardia ou fixam N durante um curto período do seu ciclo, como o feijão. Em *Cyamopys tetragonoloba*, a quantidade de N fixado duplicou em resposta à aplicação de uma dose de arranque de N mineral (Arayangkoon et al., 1990). Contudo, na soja, doses de arranque não são recomendadas, pois, de modo geral, não induzem aumentos da produção no Brasil. Mendes et al. (2003) observaram que doses de arranque de 20, 30 ou 40 kg ha⁻¹, tanto em plantio direto como em plantio convencional da soja no cerrado, não aumentaram a produção. O balanço de N (N exportado pelos grãos - contribuição da FBN para a cultura) tem sido próximo a zero ou negativo na soja, ou seja, pouco N é deixado no solo, o que resulta em favorecimento da FBN, principalmente em plantio direto. No entanto, os cálculos de balanço de N não levam em consideração todo o sistema radicular, ou o que é exudado pelas raízes; assim, esse balanço pode ser mais positivo que o que tem sido relatado (Alves et al., 2003). Em outras culturas que não apresentem potencial de FBN elevado como a soja, a aplicação de doses de arranque ou complementares deve considerar os períodos, na variedade ou genótipo específico, onde a FBN ocorre em baixas taxas, visando à complementação da nutrição do N, tendo se o cuidado de que o resíduo não iniba possíveis atividades subseqüentes.

Plantas dependentes de FBN são geralmente menos tolerantes a estresses que as que recebem N mineral. A temperatura crítica em *Cyamopsis tetragonoloba* em plantas dependentes da FBN foi entre 37 e 40°C, enquanto, para plantas dependentes de N-mineral, foi acima de 40°C (Arayangkoon et al., 1990). Plantas que receberam N-mineral toleraram concentrações mais elevadas de metais pesados no solo do que as que foram inoculadas com rizóbio (Trannin et al., 2001b; Mostasso, 1997). Em solo ácido, os pesos da parte aérea e das raízes foram reduzidos em plantas derivando N de FBN, mas não nas que receberam N-inorgânico (Cline & Kaul, 1990).

Elementos tóxicos

O efeito prejudicial de elementos tóxicos, notadamente os metais pesados, é bem documentado em simbioses rizóbio-leguminosas, o qual tem ocorrido em concentrações menores que os limites estabelecidos por países da Comunidade Européia (Tabela 9.29), onde a contaminação se dá, principalmente, por fontes orgânicas, como lodo de esgoto, aplicado em sistemas agrícolas. No Brasil, resultados já são disponíveis mostrando o efeito tóxico desses elementos, oriundos de fontes inorgânicas, nas quais estão geralmente mais disponíveis, em simbioses com espécies nativas (Tabela 9.29) e na sobrevivência de rizóbio em soluções aquosas (Figura 9.26) ou no solo (Figura 9.27). Tanto para rizóbio de solos temperados como tropicais, a toxicidade dos metais Cu, Cd e Zn decresce nessa ordem e, entre os gêneros de rizóbio, *Bradyrhizobium* é o mais tolerante e, *Azorhizobium*, o menos. *Rhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium* têm tolerância intermediária entre esses dois (Matsuda et al., 2002a). Observou-se variabilidade entre espécies do mesmo gênero com relação à tolerância, tendo estirpes mais tolerantes selecionadas boa sobrevivência no solo com alto nível de contaminação.

Tabela 9.29. Concentrações máximas de Cu, Cd e Zn toleradas por estirpes e isolados de *Bradyrhizobium* e de *Azorhizobium*, em meio YMA (mg L^{-1}) e em simbiose em solo contaminado (mg dm^{-3}) (Trannin et al., 2001b).

Estirpe/ Isolado	Cu		Cd		Zn	
	Solo ⁽¹⁾	YMA	Solo ⁽¹⁾	YMA	Solo ⁽¹⁾	YMA
<i>Bradyrhizobium/Enterolobium contortisiliquum</i>						
BR-4406	184	>40	42,5	>40	1125	800
INPA-398	111	20	22,1	30	750	500
UFLA 1-457	111	>40	22,1	>40	750	800
<i>Azorhizobium/Sesbania virgata</i>						
BR-5401	111	5	22,1	20	750	300
UFLA 1-483	111	5	22,1	20	750	400
UFLA 1-515	111	5	22,1	30	750	400
<i>Bradyrhizobium/Acacia mangium</i>						
BR-3617	1,2	20	0,08	30	0,4	600

Limites permissíveis no solo pela Comissão da Comunidade Européia (1986): 1,0, 50 e 150 mg dm^{-3} de Cd, Cu e Zn respectivamente, extraídos por "aqua regia"; ⁽¹⁾ Extraído por DTPA (mg dm^{-3}).

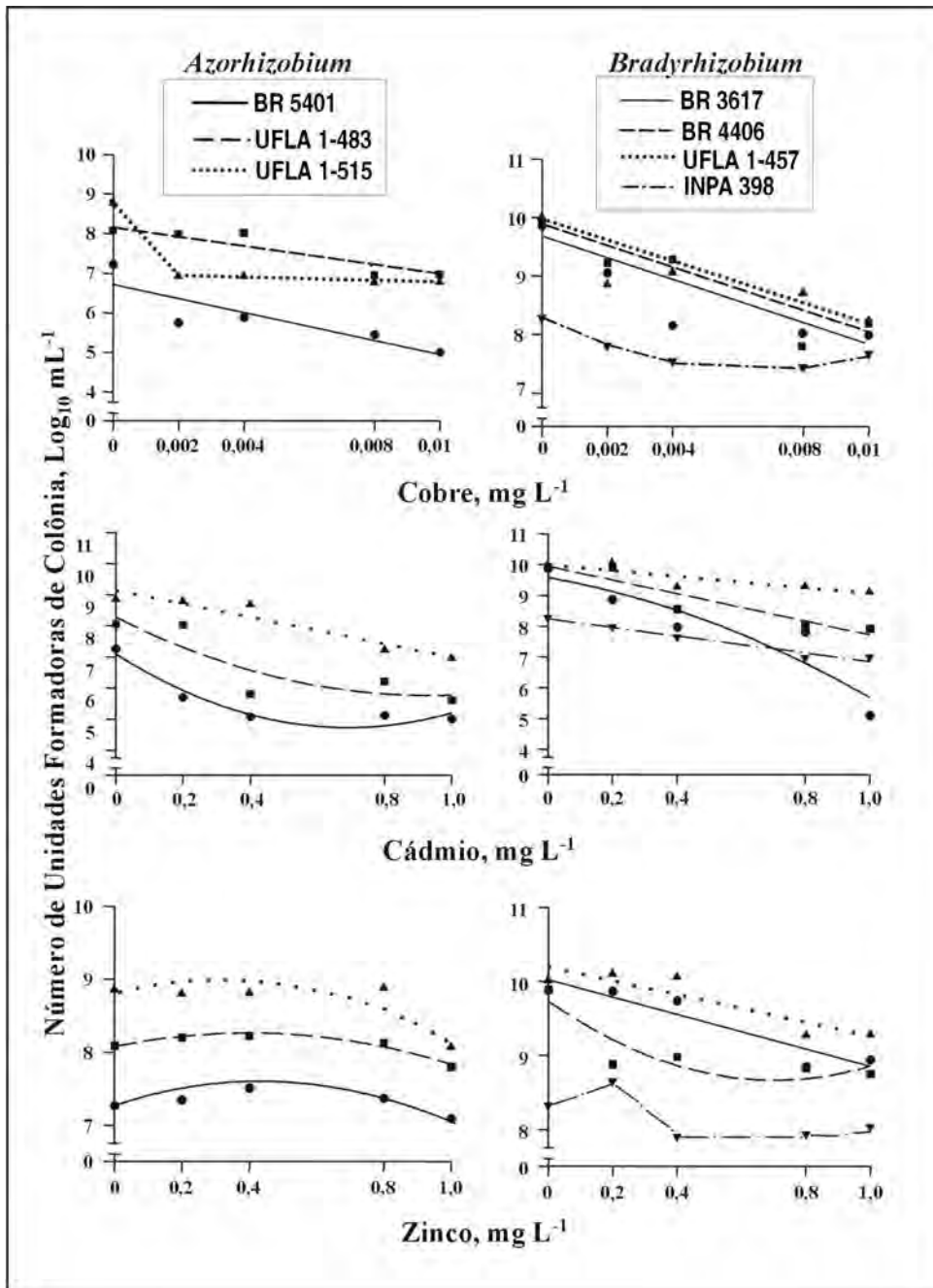


Figura 9.26. Efeito de cobre, cádmio e zinco em solução aquosa sobre o número de unidades formadoras de colônia (UFC) de estirpes e isolados de *Bradyrhizobium* e de *Azorhizobium*, após 96 horas de incubação. (Trannin et al., 2001a.)

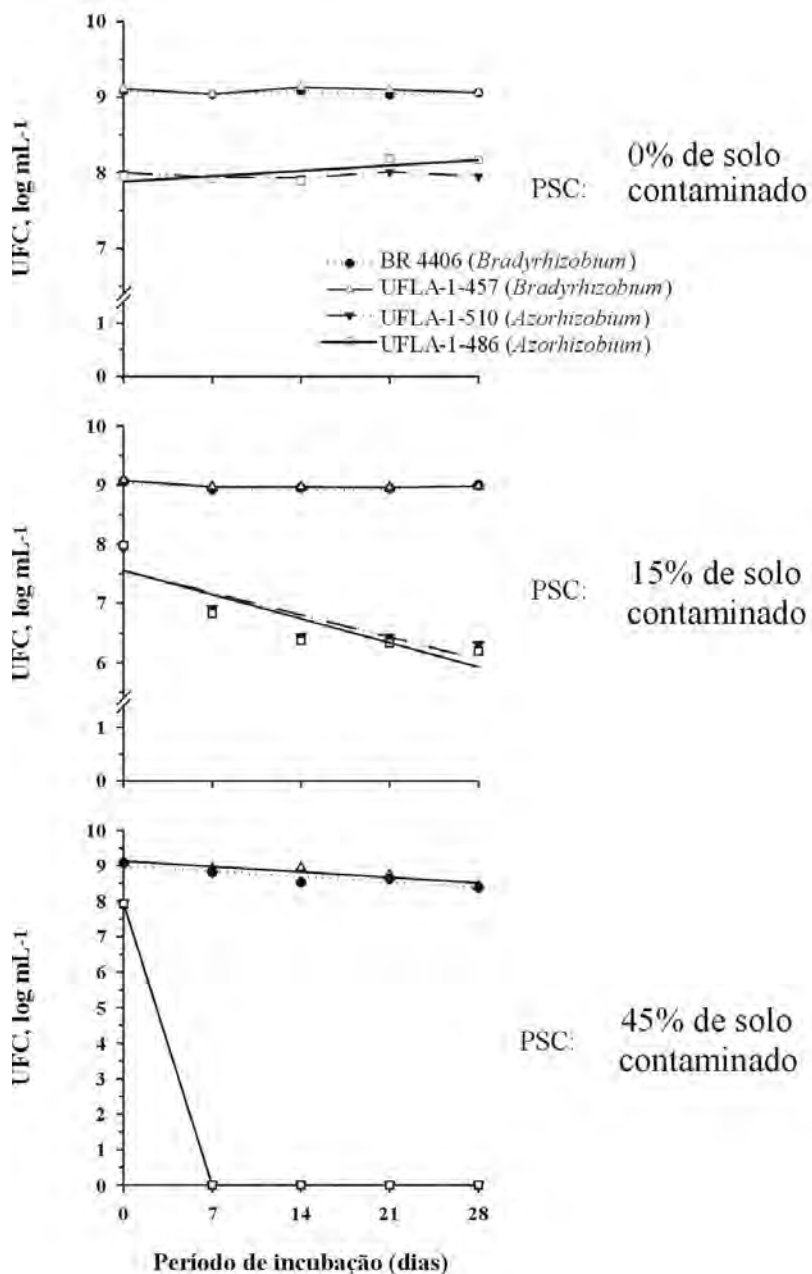


Figura 9.27. Número médio de unidades formadoras de colônias (UFC) de estirpes de *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*, em função do período crescente de incubação (dias) em cada mistura de solos contendo diferentes proporções de solo contaminado (0%, 15% e 45%). (Matsuda et al.,2002b.)

Defensivos agrícolas

O levantamento de diversos trabalhos nacionais e internacionais relacionados com esse aspecto (De-Polli et al., 1986) demonstrou que não é possível fazer generalizações, ou seja, dependendo do tipo, fungicida, herbicida ou inseticida, este pode ter efeito prejudicial, não exercer nenhum efeito ou até mesmo ter efeito benéfico sobre BFNN e suas simbioses; neste último caso, porém, raramente. Efeitos prejudiciais foram apresentados por 54% dos fungicidas testados, 42% dos herbicidas e 40% dos inseticidas. Nematicidas não apresentaram nenhum efeito de toxicidade e fungicidas mercuriais não devem ser usados junto à inoculação das sementes. Ressalte-se que os efeitos tóxicos podem variar, dependendo da dose aplicada, da espécie e da estirpe. Maly et al. (2006) demonstraram que os efeitos tóxicos do herbicida Roundup®, formulado à base de glifosato, só foram encontrados em doses muito superiores àquelas recomendadas para aplicação no campo e variaram entre três estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* e uma estirpe de *B. japonicum*, oriundas de diversas regiões (Amazônia, cerrado e Sudeste). *Bradyrhizobium elkanii* foi mais tolerante que *B. japonicum* e, nessa primeira espécie, encontra-se a estirpe BR 29 (SEMIA 5019), cuja capacidade competitiva e saprofítica é bem conhecida e deve estar relacionada a sua elevada tolerância a estresses, como o relatado acima, além de antibióticos (Scotti et al., 1982), pH (Miguel & Moreira, 2001) e metais pesados (Matsuda et al., 2002a). Pelo menos com relação à acidez, sua tolerância parece estar associada à maior produção de exopolissacarídeos extracelulares.

Campo & Hungria (2000) relataram que o tratamento de sementes de soja com fungicidas (contato + sistêmico) antes da aplicação do inoculante, reduz a nodulação e afeta a eficiência da FBN, podendo comprometer os rendimentos da cultura da soja, especialmente na presença de Co + Mo. Esses autores presumiram que, além do princípio ativo, o pH e os solventes usados nas formulações sejam os responsáveis pela mortalidade das bactérias.

Umidade e salinidade

A deficiência hídrica pode afetar o peso de nódulos e a atividade da nitrogenase em leguminosas como a soja (Vargas & Suhet, 1980). No entanto, simbioses de leguminosas com BFNN podem-se estabelecer em condições extremas de seca, como diversas espécies de *Acacia* no Sahel africano, ou em condições de prolongada inundação (até cinco meses) como várias espécies nativas de tais ecossistemas na Amazônia, demonstrando a ampla versatilidade adaptativa da família. A pouca aeração decorrente da inundação do solo pode afetar negativamente a simbiose em diversas culturas (Diatloff, 1967). No entanto, a nodulação de várias espécies de leguminosas nos sistemas periodicamente inundados (incluindo as florestas) é maior que nos solos de terra firme na Amazônia, pois, quando o nível das águas dos rios desce, pode-se observar uma massa abundante de nódulos aflorando à superfície do solo (Moreira et al., 1992), o qual é provavelmente favorecida pela redução de N no solo pela alta lixiviação. Similarmente, Scholles & Vargas (2004) observaram que, em condições de umidade elevada, houve redução do número de nódulos em soja (experimento em casa de vegetação num planossolo), mas com a redução da umidade, houve recuperação da nodulação. Em regiões semi-áridas (zona ecoclimática do Sahel), populações significativas de *Bradyrhizobium* vivem em solo sob vegetação de

Acacia albida até 34 m de profundidade ao nível do lençol freático (Dupuy et al., 1992). No deserto de Sonorah (EUA), populações maiores que $5,9 \times 10^3$ células g^{-1} de solo foram encontradas a 6 m de profundidade também ao nível do lençol freático, sob *Prosopis glandulosa* (Jenkins et al., 1987). O estresse à seca é mais tolerado por leguminosas que têm sistema radicular profundo como a algaroba. Do mesmo modo, a inoculação com fungos micorrízicos pode conferir maior tolerância à seca, como em leguminosas arbóreas nodulíferas (Osonubi et al., 1991).

O aumento da salinidade pode ocasionar a redução do peso da parte aérea, nodulação radicular e atividade da nitrogenase (Esechie et al., 1998). Dentro de limites específicos, pode ocorrer tolerância dos simbiosites para salinidade. No Brasil, esses estresses são importantes, principalmente no Nordeste, onde resultados de seleção de estirpes tolerantes já são disponíveis para inoculação em caupi (Santos et al., 1990). A UFLA 3-84, recomendada como inoculante para caupi, destacou-se entre outras estirpes de diferentes gêneros de BFNNL, como altamente tolerante à salinidade, pois cresceu em meio de cultura contendo até $30 g L^{-1}$ NaCl (Nóbrega et al., 2004).

Temperatura

A temperatura pode afetar vários estádios importantes da infecção, formação e função dos nódulos (Tabela 9.28); no entanto, seus efeitos podem variar tanto em função da espécie hospedeira como do microsimbionte. A alta sensibilidade a temperaturas elevadas pode ser exemplificada pelas simbioses do feijoeiro, drasticamente limitadas a temperaturas médias maiores que $34^{\circ}C$. Tanto a planta como a bactéria são afetadas, no caso da bactéria, os plasmídeos que carregam os genes simbióticos podem ser perdidos ou sofrer rearranjos genéticos em seqüências reiteradas (i.e., seqüências que ocorrem muitas vezes em um genoma) que modificam a expressão desses genes (Soberon-Chaves et al., 1986). Estirpes isoladas de leguminosas florestais tolerantes a altas temperaturas (Cunha & Franco, 1988) e eficientes na nodulação do feijoeiro podem ser valiosa fonte de recursos genéticos para aumentar o potencial de FBN nessa cultura nos trópicos, como as estirpes encontradas por Hungria et al. (1993). Estirpes tolerantes a altas temperaturas também podem formar simbioses eficientes com leguminosas arbóreas, como, por exemplo, em *Mimosa flocculosa* (Cunha et al., 1994).

Outras práticas de manejo e mineração

O plantio direto aumentou a diversidade de estirpes BFNN de soja, caracterizadas por RAPD, em relação ao plantio convencional em solos do Sul do Paraná (Ferreira et al., 2000). No entanto, a diversidade de BFNN em *Cajanus cajan*, também detectada por RAPD, não diferiu em solos sob plantio direto e convencional em São Paulo (Coutinho et al., 1999).

A mineração é importante atividade econômica no Brasil; todavia, é responsável por extensas áreas de solos degradados. Melloni et al. (2006) encontraram que a diversidade de BFNN de feijão e caupi, espécies bastante promíscuas indicadas para estudos da biodiversidade de BFNNL, foi drasticamente afetada pela mineração de bauxita. No entanto, a prática de recuperação das áreas através da revegetação aumentou a diversidade de BFNN, principalmente quando se utilizaram leguminosas.

526 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

População nativa de BFNNL

A população de BFNNL pode representar, aproximadamente, 0,1% da população bacteriana do solo (em torno de 10^9 células por grama de solo), ou seja, 10^6 células (Singleton et al., 1992); dependendo das condições edáficas, porém, a população de rizóbio pode variar de 0 a 10^6 células por grama de solo. Em diversos ecossistemas da Amazônia (floresta, pastagem, capoeira, monoculturas e sistemas agroflorestais) em áreas remotas, onde nenhum inoculante foi introduzido, esse número variou de 15 a mais de 20.000 ($10^{4,3}$) células por grama de solo (Pereira, 2000, Jesus et al., 2005). Essas populações podem ser extremamente variáveis, tanto em composição de espécies como de suas estirpes, incluindo características simbióticas. Além disso, estirpes de BFNNL nativas e ineficientes podem competir com as eficientes, introduzidas através da inoculação, por sítios de infecção na planta hospedeira, uma vez que numa mesma planta podem ocorrer nódulos formados por diferentes estirpes e até mesmo por diferentes espécies. Na **tabela 9.30**, pode-se verificar que, dependendo da concentração de células de determinada estirpe no inoculante, sua ocorrência nos nódulos variou, sendo sempre maior quando a concentração de células era maior. Em todos os casos, também houve nódulos formados por estirpes nativas, mas em frequência menor que as das estirpes inoculadas. Se parcela significativa dos nódulos for formada por estirpes nativas ineficientes ou pouco eficientes, a contribuição da FBN para a espécie vegetal não será significativa. A ausência ou o número baixo de estirpes específicas de determinado hospedeiro no solo, ou a presença de populações ineficazes que podem competir pelos sítios de nodulação com estirpes eficientes, tornam necessária a inoculação

Tabela 9.30. Ocorrência das estirpes de *R. japonicum** SEMIA 587(= BR96) e BR 29 (= SEMIA 5019) em nódulos de soja cultivada em Latossolo Vermelho-Escuro (solo originalmente sob vegetação de cerrado) em diferentes relações de concentração de inóculo em soja (Peres & Vidor, 1980).

Níveis de inóculo	Nódulos tipificados **	SEMIA	SEMIA	Sem reação (estirpe nativa)
		587	5019	
	n. ^o	%		
Testemunha	63	17	51	32
A ₃ B ₃	123	45	52	3
A ₃ B ₄	341	16	79	5
A ₃ B ₅	389	2	98	0
A ₃ B ₆	391	0	100	0
A ₄ B ₃	201	78	17	5
A ₅ B ₃	60	57	37	6
A ₆ B ₃	321	93	6	1

Obs.: As letras A e B correspondem, respectivamente, às estirpes 587 e 5019, e os índices 3, 4, 5 e 6, às concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 células g⁻¹ de inoculante.

* Atualmente, essas estirpes são classificadas como *Bradyrhizobium elkanii*; ** Tipificação sorológica através de reações de aglutinação entre antissoros específicos para as duas estirpes e nódulos.

com estirpes selecionadas quanto à eficiência, competitividade e adaptação às condições climáticas e edáficas locais. Quando a espécie nodulífera é altamente promíscua, como *Phaseolus vulgaris*, por exemplo, torna-se mais difícil a introdução, estabelecimento e desenvolvimento da simbiose com populações eficientes. Esse tem sido, portanto, um dos principais fatores limitantes para a maximização de FBN nessa cultura. A alta concentração de bactérias no inoculante, como será abordado adiante, visa contribuir para superar essa limitação.

9.8.6. Inoculação de leguminosas com BFNNL: a tecnologia e a contribuição

Nem sempre a população nativa do solo é capaz de estabelecer uma simbiose mutualista com o hospedeiro cultivado, sendo, então, necessária a inoculação de estirpes selecionadas para a espécie vegetal-alvo. A necessidade de inoculação deve ser verificada considerando as situações listadas na **tabela 9.31**. A reinoculação, ou seja, a inoculação em áreas previamente inoculadas, dependerá de alguns dos fatores listados nessa tabela. Solos com características físico-químico-biológicas favoráveis e/ou cultivo contínuo da espécie vegetal-alvo garantem a sobrevivência das bactérias introduzidas em números elevados que garantem boa nodulação do cultivo posterior e, conseqüentemente, não necessitam ser reinoculados. Como exemplo, Campos & Gnatta (2006) atribuíram a ausência de resposta à reinoculação da soja, em área de plantio direto no Rio Grande do Sul, a números adequados das populações de *Bradyrhizobium* estabelecidas. Já, o uso contínuo da leguminosa pode diminuir a relação C:N da matéria orgânica e levar a inibição da nodulação em vista do acúmulo de nitrogênio no solo; nesse caso, a cultura não responderá nem à reinoculação nem à adubação nitrogenada. De modo geral, é difícil identificar, a curto prazo, as condições ambientais e biológicas que indiquem a necessidade da reinoculação; assim, como o custo do inoculante é baixo, tem-se recomendado essa prática.

A seleção de estirpes eficientes para maximizar a fixação de nitrogênio em espécies vegetais de importância econômica tem sido um dos principais alvos da pesquisa. Além da eficiência, essas estirpes devem apresentar outras características, como ser boas competidoras por sítios de infecção com relação às estirpes nativas e ter boa sobrevivência e adaptação às condições edáficas e climáticas (**Tabela 9.32**). O processo de seleção de estirpes para determinada espécie vegetal envolve, de modo geral, quatro estádios. No primeiro é verificada, em câmara de crescimento (condições ótimas e controladas de temperatura, umidade, luminosidade e nutrientes), a capacidade de nodular e fixar nitrogênio de um número elevado de estirpes, testadas separadamente em recipientes menores (tubos, sacos plásticos ou outros tipos de frascos de vidro autoclavável) com solução nutritiva livre de nitrogênio na forma mineral, com ou sem ágar em condições estéreis. No segundo estádio, estirpes selecionadas são testadas em recipientes maiores com solução nutritiva livre de N mineral, contendo ou não mistura de areia e vermiculita, ou outro suporte, esterilizados (e.g. vasos de Leonard), em casa de vegetação. Nos estádios seguintes, estirpes selecionadas são testadas em vasos com solo na casa de vegetação e, depois, em experimentos de campo. Estirpes que não tenham boa performance nos estádios iniciais de seleção são eliminadas, pois, se não estabelecem simbiose eficiente em condições nutricionais e ambientais adequadas, também não o

528 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

farão nas condições mais estressantes do solo. Em todos esses estádios, são adicionados três tratamentos controle; 1. sem inoculação; 2. com nitrogênio mineral, e 3. com estirpe eficiente previamente selecionada para a espécie (caso exista) e/ou uma reconhecidamente nodulífera na espécie. O primeiro controle visa verificar se as condições de assepsia foram adequadas e, conseqüentemente, a ausência de contaminação no experimento. Caso ocorram nódulos nesse controle, o experimento está perdido. O segundo controle serve como referência para verificar o grau de eficiência da estirpe (que pode também ser comparada ao controle 1). O terceiro serve também como referência para avaliação da eficiência das estirpes testadas. Além disso, esse indica se as condições experimentais foram adequadas para expressão da nodulação e fixação biológica de N₂.

No Brasil, estirpes de BFBNN já foram selecionadas para 94 espécies vegetais (**Tabela 9.33**). A manutenção e o controle da coleção oficial dessas estirpes são feitos pelo FEPAGRO (prefixo SEMIA).

Tabela 9.31. Necessidade de inoculação (Roughley, 1988, Peoples et al., 1989 e Turk et al., 1993).

-
- Ausência da espécie hospedeira ou de outra simbioticamente relacionada no passado imediato.
 - Nodulação pobre quando a espécie foi cultivada previamente.
 - Número baixo de células de rizóbio (< 50/g solos).
 - Quando a leguminosa segue uma cultura não leguminosa em rotação.
 - Em recuperação de solos degradados.
 - Quando condições ambientais são desfavoráveis para sobrevivência de rizóbio, i.e., solos alcalinos ou muito ácidos, sob inundação prolongada, temperaturas elevadas, ou condições secas.
-

Tabela 9.32. Características desejáveis de estirpes de rizóbio usadas em inoculantes comerciais.

-
- Habilidade de formar nódulos e fixar N na espécie-alvo.
 - Habilidade de fixar N numa ampla faixa de genótipos de hospedeiros.
 - Habilidade de crescer bem em meio artificial no veículo do inoculante e no solo.
 - Estabilidade genética.
 - Baixa mortalidade na semente.
 - Compatibilidade com agroquímicos.
 - Habilidade de competir na formação de nódulos com população de rizóbio já presente no solo (nativa).
 - Habilidade de colonizar a rizosfera do hospedeiro.
 - Habilidade de migrar de um sítio inicial de inoculação.
 - Habilidade de fixar N numa ampla faixa de condições ambientais.
 - Habilidade de formar nódulos e fixar N na presenç a de N combinado no solo.
 - Habilidade de tolerar estresses ambientais.
 - Habilidade de persistir no solo, sobretudo para leguminosas que se regeneram anualmente.
 - Habilidade de colonizar o solo na ausência do hospedeiro.
-

Tabela 9.33. Estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio recomendadas pela RELARE e autorizadas pelo MAPA para produção de inoculantes para diversas leguminosas no Brasil.

Espécie de leguminosa	Designação original (Publicação) *	Designação SEMIA**	Designação BR*** ou LMG****	Base de Recomendação e Instituição****	Identificação*****
Leguminosas de grãos, adubação verde e forrageiras					
<i>Arachis hypogaea</i>	USDA3187	6144	1405	IV – IAC (SMS 400)	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>Cicer arietinum</i>	TAL1148	396	4507	IV – FEPAGRO/UFRGS	<i>Mesorhizobium ciceri</i> (11)
<i>Glycine max</i>	SEMIA 587, CNPAB-29W (1) CPAC7, CPAC15 (2)	5019 5080, 5079	96, 29 86, 85	IV – FEPAGRO/UFRGS, CNPAB IV – Embrapa Cerrados	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (2) <i>Bradyrhizobium japonicum</i> (6)
<i>Lens esculenta</i>	SEMIA344; CPAC-L3; CPAC-L12 (3)	3025, 3026	4504, 4505, 4506	II – FEPAGRO/UFRGS, Embrapa Cerrados.	<i>Rhizobium</i> sp. (9)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	PRF81 (4), CIAT 899, B-11A; CPAC-EV6 (5)	4080, 4077 3007, 3012	520, 322 619, 618	IV – Embrapa Soja/CIAT, IAPAR IV – FEPAGRO/UFRGS, Embrapa Cerrados	<i>Rhizobium tropici</i> (1, 6) <i>Rhizobium</i> sp.
<i>Vigna unguiculata</i>	UFLA 3-84 e INPA3-11B (6) BR3267 (7)	6461, 6462 6463	3302, 3301	IV-UFLA, Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (10)
<i>Cajanus cajan</i>	CPAC-IJ, CNPAB-11a	6156, 6157	2003, 2801	IV – Embrapa Cerrados	<i>Bradyrhizobium</i> var.k72, k8, Peru (9)
<i>Centrosema</i> spp.	CNPAB-C100 e CNPAB-C106, CPACL36(8), CIAT2380	690, 6146, 6424, 6425	1804, 1808, 1836, 1837	II – Embrapa Agrobiologia IV – Embrapa Agrobiologia, CPAC/FEPAGRO/UFRGS	<i>Bradyrhizobium</i> sp.(9)
<i>Desmodium canum</i>	TAL569	6028	2207	II	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>D. intortum</i>	SEMIA656	6208, 6209	1010	II	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>D. ovalifolium</i>	CIAT2372, CIAT4099	6149, 6150	2212, 2214 3101, 3102	III	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>Galactia striata</i>	CB627 = SMS138, SMS300	6156, 6158	2003, 2811	III	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>Indigofera hirsuta</i>	CPAC-IJ, CPAC-42	662, 695	2404, 2405	II	<i>Rhizobium</i> sp. (9)
<i>Labiab purpureus</i>	CB-188, QA-922	658	3001	III	<i>Rhizobium</i> sp. (9)
<i>Lotononis balhensis</i>	CB756				
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	SEMIA656	-	1010	II	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>Macrotyloma axillares</i>	SMS138 = CB627	6149	3101	II	
<i>Neorotonia wightii</i>	SEMIA656, SMS303	idem, 6148	1010, 1009	III	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)
<i>Stylosanthes</i> sp.	CNPAB-H8, CNPAN-365	6154, 6155	446, 502	III	<i>Bradyrhizobium</i> sp.

Continua...

Continuação...		Designação original (Publicação)*	Designação SEMIA**	Designação BR** ou LMG****	Base de Recomendação e Instituição*****	Identificação*****
<i>Adesmia latifolia</i>	TAL364, SEMIA3018	6437, 6438	4508, 4503	II	<i>Rhizobium</i> sp. (9)	
<i>Lathyrus odoratus</i>	SEMIA806, SEMIA 816	388	7802, 7803	IV – FEPAGRO/UFRRGS	<i>Mesorhizobium</i> sp. (9)	
<i>Lotus corniculatus</i>	SEMIA839		7804		<i>Mesorhizobium</i> sp. (9)	
<i>L. pedunculatus</i>		848, 849			<i>Mesorhizobium</i> sp. (9)	
<i>L. subflorus</i>	SEMIA830		7805		<i>Mesorhizobium</i> sp. (9)	
<i>L. tenuis</i>		103			<i>Sinorhizobium</i> sp. (9)	
<i>Medicago polymorpha</i>	USDA1088; SEMIA134 e 135	116, -, -	7407, 7408, 7409	IV – FEPAGRO/UFRRGS	<i>Sinorhizobium</i> sp. (9)	
<i>M. sativa</i>		905, 929			<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>Ornithopus sativus</i>	TA-1, U-26	222, 265	7601, 7602	IV	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (9)	
<i>Trifolium pratense</i>	TA-1; U-26	222, 235	7601, 7602	IV – FEPAGRO/UFRRGS	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (9)	
<i>T. repens</i>		2002			<i>Rhizobium leguminosarum</i> (9)	
<i>T. semipilosum</i>		222,265	7601, 7602		<i>Rhizobium leguminosarum</i> (9)	
<i>T. subterraneum</i>	SEMIA2050, SEMIA2051	2050, 2051	7603, 7604	II	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (9)	
<i>T. vesiculosum</i>	SEMIA384		610	II	<i>Rhizobium leguminosarum</i> (9)	
<i>Vicia sativa</i>	CNPAB-CM7	6152	1602	IV – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>Calopogonium</i> spp.	CPAC-J, CPAC-42	6156, 6158	2003, 2811	III	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>Canavalia ensiformis</i>	CNPAB-CJ1, CPAC-IJ	6145, 6156	2001, 2003	II, IV	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>Crotalaria juncea</i>	CPAC-IJ; CPAC-42	6156, 6158	2003, 2811	IV – Embrapa Cerrados	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>C. spectabilis</i>	CNPAB-CJ1; SMS561	6145, 6319	2001, 1404	II	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>Cyamopsis</i>						
<i>tetragonoloba</i>						
<i>Lupinus</i> sp.	W-72, SEMIA938	928, -	9076, 9077	III	<i>Rhizobium</i> sp. (9)	
<i>Pueraria phaseoloides</i>	DF-Q1	6175	2613	III – Embrapa Cerrados	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
<i>Stizolobium aterrimum</i>	CPAC-42	6158	2811	IV – Embrapa Cerrados	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)	
Leguminosas florestais						
<i>Acacia angustissima</i>	BR3629, BR3630 (9)	6429, 6430	LMG9961,	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , B.	
<i>A. auriculiformis</i>	BR3609, BR3624 (9)	6387, 6391	LMG9968	III – Embrapa Agrobiologia	<i>elkanii</i> (3)	
			LMG9960,		<i>Bradyrhizobium japonicum</i> ,	
			LMG9964	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> (3,10),.	
<i>A. decurrens</i>	BR3608, BR3614 (9)	6164, 6390				

Continua...

Continuação...		Designação original (Publicação)*	Designação SEMIA**	Designação BR*** ou LMG****	Base de Recomendação e Instituição*****	Identificação*****
<i>A. farnesiana</i>	BR3630, BR9002 (9)	6430, 6436		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> sp.(10)	
<i>A. mearnsii</i>	BR3607, BR3608 (9)	6163, 6164	-LMG9960	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (3)	
<i>A. mangium</i>	BR3609, BR 3617 (9)	6387, 6420	LMG9961, LMG9965	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>B. elkanii</i> (3,4)	
<i>A. podalyriaetolia</i>	BR3611, BR3612 (9)	6388, 6389	LMG9962, MG9963	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , <i>B. elkanii</i> (3)	
<i>A. salicina</i>	BR3804, BR5005 (9)	6392, 6400	LMG9970	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Mesorhizobium plurifarium</i> (3, 4, 5)	
<i>A. saligna</i>	BR3628, BR8601 (9)	6096, 6428		II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (10)	
<i>Acosmium nitens</i>	BR4901, BR4902 (9)	6443, 6444		III – Embrapa Agrobiologia		
<i>Albizia lebbek</i>	BR5610, BR5611 (9)	6160, 6432	LMG9998	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4)	
<i>Balizia pedicellaris</i>	BR6815, BR6816 (9)	6396, 6408	LMG10008-10009	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium/Rhizobium</i> sp.(3)	
<i>Bowditchia virgilioides</i>	BR8603, BR8604 (9)	6096,6414		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium</i> sp.*****	
<i>Calliandra callothirsus</i> e <i>C.surinamensis</i>	BR4301, BR4302 (9)	6395, 6423	LMG9978	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Rhizobium</i> sp. (3,10)	
<i>Chamaecrista ensiformis</i>	BR3804 (9)	6392	LMG9970	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Mesorhizobium plurifarium</i> (3, 4, 5)	
<i>Clitoria farchildiana</i>	BR8003, BR8005 (9)	6411, 6412	LMG10011, LMG10012	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Rhizobium</i> sp.	
<i>Dalbergia nigra</i>	BR8402, BR8404 (9)	6413, 6101	LMG10015; LMG10017	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> sp. (3, 10)	
<i>Dimorphandra jorgei</i>	BR5004, Br5005 (9)	6099, 6400	LMG9989	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4)	
<i>Enterobium contortisiliquum</i>	BR4406 (9)	6159	LMG9980	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4)	
<i>E. cyclocarpum</i>	BR4406, BR6205 (9)	6159, 6403	LMG9980	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4)	
<i>E. timbouva</i>	BR4407 (9)	6159, 6397	LMG9980, LMG9981	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (3)	
<i>Erythrina poeppigiana</i>	BR3611 (9)	6388, 6426	LMG9962	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (3)	
<i>E. verna</i>	BR5609 (9)	6388, 6100	LMG9997	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4)	

Continua...

Continuação...	Designação original (Publicação)*	Designação SEMA**	Designação BR** ou LMG****	Base de Recomendação e Instituição*****	Identificação*****
<i>E. speciosa</i>	BR4101, 4301 (9)	6393, 6395	LMG9978 LMG9974	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Ochrobactrum</i> sp., <i>Rhizobium</i> sp., (3,10)
<i>Falcataria molucana</i>	BR5609	6100,	LMG9997,	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4)
(<i>Paraserianthes fal-</i>	BR5611	6432,	LMG9998		
<i>cataria, Albizia falcata</i>)	BR5612 (9)	6169			
<i>Gliricidia sepium</i>	BR8801	6188,	LMG10132,	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
	BR8802 (9)	6435	LMG10020		(3,4,11)
<i>Inga marginata</i>	BR6609, BR 6610 (9)	6433, 6434		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Sinorhizobium fredii</i> (3,4)
<i>Leucaena diversifolia</i>	BR827	6153,	LMG9956	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (3,4)
	BR3608 (9)	6164	LMG9960	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Sinorhizobium fredii</i> (3,4)
<i>L. leucocephala</i> var.	BR827, BR814 (9)	6153, 6069	LMG9956	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Rhizobium</i> sp. (3, 4)
K72, K8, Peru			LMG9952	III – Embrapa Cerrados e	<i>Rhizobium</i> sp. (3, 4)
<i>L. leucocephala</i>	DF-10	6069,	814/ LMG9952	Agrobiologia	<i>Sinorhizobium fredii</i> (3,4)
var. <i>cunningham</i>	BR827 (9)	6153	LMG9956	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> (3,4,10)
<i>Lonchocarpus</i>	BR6009, BR6010 (9)	6399, 6404	LMG10001		
<i>costatus</i>			LMG10002		
<i>Melanoxylon brauna</i>	BR3901 (9)	6381	LMG9971	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (3,10)
<i>Mimosa acutistipula</i>	BR3407, BR3446 (9)	6383, 6384		II – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> sp. (7,10)
<i>M. bicromata</i>	BR3460, BR3461 (9)	6386, 6421		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia gladioli</i> (7, 10)
<i>M. caesalpinhiifolia</i>	BR3405, BR3451 (9)	6382, 6410		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia caribensis</i> (7, 10)
<i>M. ficulosa</i>	BR3462, BR3463 (9)	6417, 6422		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> sp. (7,10)
<i>M. scabrella</i>	BR3454 (9)	6165		III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> sp. (7)
<i>Ormosia nitida</i>	BR4101, BR4103 (9)	6393, 6394	LMG9974	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Ochrobactrum</i> sp. (3,10)
<i>Parapiptadenia rígida</i>	BR827, BR9002 (9)	6153		II – Embrapa Agrobiologia	<i>Sinorhizobium fredii</i> ,
<i>P. pterosperma</i>	BR9001, BR9004 (9)	6415, 6416		II – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia</i> sp. (3, 4,10)
<i>Piptadenia</i>	BR3452, UFC-832.55 (9)	6385 (= 6167),	- , BR4812	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Burkholderia tropica</i> (10)*****
<i>gonoagantha</i>		6398			
<i>Pithecellobium tortum</i>	BR6812, BR6813 (9)	6406, 6407		II – Embrapa Agrobiologia	

Continua...

...Conclusão

Espécie de leguminosa	Designação original (Publicação)*	Designação SEMIA**	Designação BR*** ou LMG****	Base de Recomendação e Instituição*****	Identificação*****
<i>Poecilanthe parviflora</i>	BR8205 (9)	6403	LMG10014	II – Embrapa Agrobiologia	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> (3)
<i>Prosopis juliflora</i>	CNPAB4002; UFC-933.52 (9)	6161, 6162	4002, 4007 LMG9972	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Sinorhizobium</i> sp. (3,4)
<i>Pseudosamanea (syn. Albizia) guachapele</i>	BR6205, BR6821 (9)	6403, 6409		III – Embrapa Agrobiologia	<i>B. elkanii</i> (3) *****
<i>Samanea saman</i>	BR6205, BR6212 (9)	6403, 6405		III – Embrapa Agrobiologia	<i>B. elkanii</i> (3) *****
<i>Sclerolobium paniculatum</i>	BR3617, BR5610 (9)	6420, 6160	LMG9965	II – Embrapa Agrobiologia	<i>B. elkanii</i> (3,4), *****
<i>Sesbania virgata</i>	Sm 1, Sm 5 (9)	6401, 6402	5401, 5404 LMG9993, MGS9994	III – Embrapa Agrobiologia	<i>Azorhizobium dobereineriae</i> (3,4,8)
<i>Tipuana tipu</i>	SEMIA6192			II – FEPAGRO/UFRGS	<i>Bradyrhizobium</i> sp. (9)

*(1) Peres & Vitor (1980); Vargas & Suhnet, 1980); (2) Peres et al. (1993); (3) Vargas et al. (1994); (4) Hungria et al. (2000); (5) Peres et al. (1984, 1989); (6) Lacerda et al. (2004); (7) Martins et al. (2003); (8) Vargas et al. (1993); (9) Faria (1997), Faria & Melo (1998), Faria & Guedes (1999), Faria (2000), Faria (2002), Faria & Franco (2002).

** Acrônimo para a coleção de culturas do MIRCEN/FEPAGRO/UFRGS; *** Acrônimo para a coleção de culturas da EMBRAPA-Agrobiologia; **** Acrônimo para Laboratório de Microbiologia, Universiteit Gent, Bélgica, estirpes publicadas em Moreira et al. (2003)*****1 - Em tubos; II - Vasos com solo; III - Vasos com solo; IV - Experimentos de campo; ***** Estirpes assinaladas em negrito na primeira coluna indicam a existência de publicações sobre sua identificação: (1) Martinez-Romero et al. (1991); (2) Rumjanek et al. (1993); (3) Moreira et al. (1993); (4) Moreira et al. (1998); (5) De Lajudie et al. (1998); (6) Chueire et al., (2003); (7) Chen et al. (2006); (8) Moreira et al. (2006); (9) Moreira (2006); (10) Moreira- sequências apresentadas em congressos; (11) provisionariamente baseada em espécies hospedeiras específicas listadas na tabela 9.20 até confirmação. ***** Identificação baseada em dados sobre estirpes homólogas (i.e. isoladas da mesma espécie e com mesma origem e característica cultural) publicados nas referências (3) e/ou (4). Outros acrônimos e abreviações para códigos das estirpes: B= México; CB= CSIRO, Div. Of Tropical Crops and Pastures, Brisbane, Austrália; CIAT= Centro Internacional de Agricultura Tropical - Cali, Colômbia; CNPAB= EMBRAPA/CNPAB - Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia - Seropédica, RJ, Brasil; CPAC= EMBRAPA/CPAC - Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - Planaltina, DF, Brasil; DF = ver CPAC; QA = Plant Pathology Culture Collection-Queensland, Austrália; IAC= Instituto Agronômico de Campinas, SP, Brasil; INPA= Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil; Sm = Ver Embrapa agrobiologia; TA = Bacteriology Laboratory, Dept. of Agriculture - Launceston, Tasmânia, Austrália; TAL= Nitrogen fixation in tropical agriculture legumes project (NIFFAL) Hawaii-EUA; UFPA= Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil; U = Ministério de Granaderia y Agricultura – Montevideo, Uruguai; UFC = Universidade Federal do Ceará - Fortaleza, CE, Brasil; UMR = University of Minnesota, EUA; USDA= United State Dept. of Agriculture - Beltsville, Maryland, USA; w = Wait Agricultural Research Institute, Adelaide, Austrália.

Anualmente, ou bianualmente, representantes das instituições dessa área de pesquisa, assim como representantes do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e das empresas produtoras de inoculantes, realizam a reunião de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbiológicos de interesse agrícola (RELARE), que também tem como objetivo o controle e estabelecimento de normas para a produção desses inoculantes no País.

A produção de inoculantes é feita por diferentes empresas existentes no mercado brasileiro. No entanto, em 2003, cerca de 26% dos inoculantes são importados principalmente do Uruguai e da Argentina. A maior parte do inoculante produzido (72%) é uma mistura de turfa com pH neutralizado e cultura líquida de estirpes de rizóbio recomendadas (3:1 V/V). De acordo com padrões estabelecidos na RELARE (1994), a turfa deve ser esterilizada para evitar propagação de outros organismos indesejáveis ou que possam afetar a sobrevivência de BFNNL. Em virtude do grande volume de inoculantes produzido, o método empregado é o de radiação gama proveniente do ^{60}Co . Os outros tipos de inoculante são o líquido e o pó molhável, representando, respectivamente, 18 e 10% da produção total. A instrução normativa nº 5 (de 6 de agosto de 2004), publicada no Diário Oficial da União (IN e sua retificação nos links: http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/LEGISLACAO/PUBLICACOES_DOU/PUBLICACOES_DOU_2004/PUBLICACOES_DOU_AGOSTO_2004/DO1_10.08.2004.PDF http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/LEGISLACAO/PUBLICACOES_DOU/PUBLICACOES_DOU_2004/PUBLICACOES_DOU_AGOSTO_2004/DO1_13.08%5B1%5D), referendou as recomendações da RELARE e estabeleceu, entre outros, que:

- 1- todos os inoculantes devem apresentar $1,0 \times 10^9$ células viáveis por grama ou mililitro do produto, até a data de seu vencimento;
- 2- ser elaborados em suporte estéril e estar livres de microrganismos não especificados em fator de diluição 1×10^{-5} ;
- 3- o suporte ou veículo deverá fornecer todas as condições de sobrevivência ao microrganismo;
- 4- o inoculante deverá ser elaborado em suporte sólido, fluido ou com outra característica, desde que atendam aos requisitos anteriores;
- 5- o prazo de validade dos inoculantes será de 6 meses a partir da data de vencimento.

O controle de qualidade nos inoculantes utilizados no País é feito por órgão competente ligado ao MAPA. Em termos de números de células, a qualidade dos inoculantes brasileiros se iguala aos produzidos na França, no Canadá, na Austrália e no Uruguai, onde também são controlados por agências governamentais (Sadowsky & Graham, 2000).

A IN de 2004 também fornece a relação das estirpes de microrganismos autorizadas para produção de inoculantes no Brasil. Desde então, novas estirpes foram incorporadas e, outras, substituídas, como as de caupi. Além disso, nessa relação, a identificação ao nível de espécie ou gênero de muitas estirpes recomendadas para espécies florestais, não estava correta, na época de acesso do *site* (janeiro, 2006). Na tabela 9.33 várias estirpes estão indicadas com a identificação correta, assim como o número das coleções de onde se originaram e/ou onde foram selecionadas, além do número da coleção oficial. Deve-se considerar, também, que novas estirpes eficientes e adaptadas para condições locais podem ainda ser selecionadas, uma vez que, até o momento houve pouca difusão da tecnologia de inoculação para outras espécies que não a soja, fato esse que as tornou relativamente pouco testadas em ampla faixa de

condições. Adicione-se, a isso, a diversidade de condições edáficas e climáticas existentes em nosso País que podem requerer estirpes adaptadas específicas.

A inoculação no momento do plantio pode ser simples ou com peletização. Na simples, faz-se uma pasta do inoculante com o mesmo volume de água ou solução açucarada (10 ou 15%) e mistura-se às sementes de acordo com as proporções indicadas na **tabela 9.34**. Na inoculação com peletização, junta-se o adesivo ao inoculante, formando uma pasta homogênea que é misturada às sementes, em seguida, adiciona-se calcário e/ou micronutrientes, ou fosfato de rocha. Em ambos os casos, as sementes inoculadas são secas à sombra e plantadas imediatamente, uma vez que as bactérias são sensíveis ao calor excessivo e perderão a viabilidade mais rapidamente se expostas à pressão parcial de oxigênio da atmosfera e se não forem expostas ao estímulo do efeito rizosférico, entre outros.

O uso de inoculantes de rizóbio em diversas culturas, substituindo total ou parcialmente os adubos nitrogenados, propicia uma economia significativa nos custos de produção. Quantidades significativas de nitrogênio são fixadas biologicamente em diversas espécies (**Tabela 9.35**).

Tabela 9.34. Material usado na inoculação e revestimento das sementes (Modificado de Faria et al., 1985).

Leguminosas	Adesivo*	Inoculante**	Sementes	Calcário ou calc. + micronut. (1:1)***
	litro	g		kg
Sementes grandes: soja, feijão, caupi, amendoim, guandu, ervilha, fava, etc.	1	500	50	10
Sementes médias: calopogônio, soja-perene, leucena, siratro, centrosema, etc.	1	500	20	16
Sementes pequenas: estilosantes, desmódio, alfafa, trevo, etc.	1	500	10	20

* Pesar 70 g (ou medir 4 colheres de sopa cheias) de polvilho de araruta, polvilho de mandioca ou farinha de trigo e diluir em água potável; completar o volume até 1 litro, aquecer a fervura até dissolver. Depois de esfriar, guardar em geladeira até o uso (goma arábica sem conservante ou goma de *Parkia nitida* [syn *P. oppositifolia*] [Moreira & Franco, 1991] também pode ser usada). Quantidade de adesivo, calcário e micronutrientes (FTE) de até 5 vezes a constante da tabela pode ser usada para aumentar a quantidade de material a ser aderida.

** Recomendação mínima, podendo ser aumentada em condições adversas (acidez, temperatura, etc.).

*** Usar o calcário peneirado o mais fino possível, podendo ser misturado, em partes iguais, aos micronutrientes (FTE). Não usar cal viva.

536 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.35. Exemplos de leguminosas nodulíferas com respectivas taxas de fixação biológica de N₂.

Leguminosas	N (kg/ha/ano)
Alfafa (<i>Medicago sativa</i>)	127-333
Amendoim (<i>Arachis hypogaea</i>)	33-297
Calopogônio (<i>Calopogonium mucunoides</i>)	64-450
Caupi (<i>Vigna unguiculata</i> sin. <i>Vigna sinensis</i>)	73-240
Centrosema (<i>Centrosema pubescens</i>)	93-398
Crotalária (<i>Crotalaria juncea</i> L.)	146-221
Clitória (<i>Clitoria ternatea</i>)	197-249
Cudzu tropical (<i>Pueraria phaseoloides</i>)	100
Desmódio (<i>Desmodium</i> sp.)	24-380
Ervilha (<i>Pisum sativum</i>)	17-244
Ervilhaca comum (<i>Vicia sativa</i>)	90
Ervilhaca-peluda (<i>Vicia villosa</i>)	110-184
Estilosantes (<i>Stylosanthes</i> sp.)	20-263
Fava (<i>Vicia faba</i>)	53-330
Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	4-165
Feijão-de-porco (<i>Vicia</i> sp. e <i>Canavalia ensiformis</i>)	57-190
Galácia (<i>Galactia striata</i>)	181
Gliricídia (<i>Gliricidia sepium</i>)	86-309
Grão-de-bico (<i>Cicer arietinum</i>)	41-270
Guandu (<i>Cajanus cajan</i>)	7-235
Guar (<i>Cyamopsis psoraloides</i>)	37-196
Lentilha (<i>Lens culinaris</i>)	35-192
Lespedeza (<i>Lespedeza stipulacea</i>)	193
Leucena (<i>Leucaena leucocephala</i>)	400-900
Mucuna-preta (<i>Stizolobium aterrimum</i>)	157
Neonotonia wightii Lacrey (sin. <i>Glycine wightii</i> Verdc.)	160-450
<i>Prosopis glandulosa</i>	2-61
<i>Sebania cannabina</i>	126-188
<i>S. rostrata</i>	324
<i>S. sesban</i>	7-18
Siratro (<i>Macroptilium atropurpureum</i>)	70-181
Soja (<i>Glycine max</i>)	17-450
<i>T. hybridum</i>	21
<i>T. indica</i>	64
Tremoço (<i>Lupinus</i> sp.)	32-288
Trevo-branco (<i>Trifolium repens</i>)	128-291
Trevo-doce (<i>Medicago alba</i>)	9-140
Trevo-egípcio (<i>Trifolium alexandrinum</i>)	62-235
Trevo-vermelho (<i>Trifolium pratense</i>)	17-373

Continua...

...Conclusão	
Leguminosas	N (kg/ha/ano)
Trevo subterrâneo (<i>Trifolium subterraneum</i>)	21-207
Trigonela (<i>Trigonella fanum-gracum</i>)	44
<i>Vigna</i> sp.	63-345
<i>Zornia glabra</i>	9-201

Adaptado de: Calegari et al. (1993), Hardarson (1993) e Peoples et al. (1995).

No Brasil, o melhor exemplo é a soja. A área plantada com essa cultura foi de 21,376 milhões de hectares (englobando as cinco regiões do Brasil) em 2003, resultando na segunda maior produção entre as lavouras temporárias em 2004: 49.793 mil toneladas de grãos com produção média de 2,329 t/ha (<http://www.agricultura.gov.br>). Considerando que os grãos apresentam 87% de matéria seca, obtiveram-se 43.320 mil toneladas de grãos secos, que, com 6% de N, continham 2.600 mil toneladas de N que foram então exportadas da lavoura. Como o N nos grãos representa em média, 80% do N total da planta, o conteúdo total de N na planta foi de 3.249 mil toneladas. A contribuição da FBN em soja, calculada por técnicas isotópicas, é relatada como sendo de no mínimo, 70 % (Urquiaga & Zapata, 2000); assim, foram fixados, pelo menos, 2.274 mil toneladas de N pela cultura. Se essa quantidade de nitrogênio tivesse que ser fornecida por fertilizantes nitrogenados teríamos que considerar a eficiência do adubo nitrogenado de 60%, sendo então necessárias 3.790 mil toneladas de N-fertilizante. Como a uréia contém 46% de N, o total de fertilizante nitrogenado requerido seria de 8.240 mil toneladas, que, a 170 dólares/tonelada (F & P, frete e porto-outubro de 2003), custariam, aproximadamente, 1,4 bilhão de dólares. Esse valor representou uma economia significativa para o País, proporcionada pela inoculação com estirpes de rizóbio selecionadas que substituíram os fertilizantes nitrogenados.

Em 2003, a dose do inoculante custou, em média, R\$4,00. O peso da dose e a concentração de células variam de acordo com o fabricante (instruções de uso são indicadas em cada produto), mas geralmente é de 200 g; o importante é que resulte, no mínimo, em 600.000 células por semente. Esse número é obtido pela fórmula: concentração de células no inoculante ($\text{n}^\circ \text{g}^{-1}$) X dose (g)/350.000 (número médio de sementes por saca de 50 kg). Uma dose é geralmente suficiente para inocular 50 kg de sementes que, de modo geral (dependendo da cultivar), são suficientes para semear 1 ha. Dados do MAPA mostram que, em 2003, utilizaram-se 26,4 milhões de doses (sendo 99% para soja). Foram gastos, então, cerca de 106 milhões de reais (cerca de 37 milhões de dólares) com inoculantes que substituíram a adubação nitrogenada, indicando uma economia considerável no custo de produção da cultura. Ressalte-se ainda, que, em 2003, consumiram-se em todas as culturas no Brasil 2.295 mil toneladas de N na forma de fertilizantes nitrogenados (dos quais cerca de 75% importados) (www.anda.org.br). Essa quantidade foi quase igual ao N fixado biologicamente na soja (ver cálculos do parágrafo anterior), o que também ressalta a importância da biotecnologia de inoculação com organismos diazotróficos e, conseqüentemente, da FBN na agricultura brasileira.

Considerando a imensa diversidade de leguminosas no Brasil e sua utilização econômica, além da disponibilidade de inoculantes para parte significativa das espécies de importância econômica, verifica-se que o uso dessa biotecnologia na agricultura poderia ser ampliada, uma vez que apenas

1% dos inoculantes produzidos foi aplicado em outras culturas. Para tal, é necessária maior difusão dessa biotecnologia de baixo custo, principalmente para os pequenos agricultores, que são os principais responsáveis pela produção de culturas como o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), entre as mais consumidas na dieta dos brasileiros. A área colhida destas culturas foi de 4,091 milhões de hectares (IBGE) em 2003, com produção de 3.302 mil toneladas. A baixa produtividade média (807 kg ha⁻¹), devida ao uso de poucos insumos, poderia ser aumentada pela FBN, que embora no feijão-comum ainda tenha algumas limitações que impedem uma eficiência similar à da soja, no feijão-caupi, tais limitações parecem não ocorrer. Isso, principalmente porque, apesar de ser bastante promíscuo, o caupi nodula e responde bem à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*, cujos genes de nodulação e FBN se situam no cromossomo e, portanto, têm maior estabilidade. Ademais, é uma espécie bastante tolerante a temperaturas elevadas, incluindo sua simbiose com bactérias fixadoras de N₂. Pouco conhecido, no Sul e no Sudeste do Brasil, essa espécie é bastante consumida no Norte e Nordeste. Seus nomes populares são feijão-de-corda, feijão-miúdo e feijão-macáçar, e é com ele que se faz o acarajé da Bahia. Experimentos de eficiência agrônômica com inoculação das estirpes INPA3-11B e UFLA 3-84 testadas nas variedades BR14-Mulato, BR08-Caldeirão e Poços de Caldas foram desenvolvidos no Sudeste, com aplicação relativamente baixa de insumos (apenas adubação de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ K₂O usando como fontes o superfosfato simples e o cloreto de potássio), e em solos com pH variando de 4,9 a 5,9. Nessas condições, os tratamentos com inoculação aumentaram significativamente a produção para 950 a 1.340 kg ha⁻¹ de grãos, equivalendo a adubação nitrogenada de 70 a 80 kg ha⁻¹ N-uréia (Lacerda et al., 2004, Soares et al., 2004, Moreira, 2005). Na reunião da RELARE, em 2004, essas estirpes foram aprovadas como inoculante para caupi em substituição à estirpe BR 2001.

O aumento da FBN pela prática de inoculação pode contribuir direta (e.g. soja, caupi) ou, indiretamente, no aumento de produção para outras culturas não fixadoras, pois leguminosas fixadoras de nitrogênio podem-se empregar como adubo verde. O nitrogênio fixado é transferido para elas de diferentes formas (**Figura 9.28**). O conceito clássico dessa prática é a incorporação ao solo de massa vegetal, não decomposta, oriunda de plantas cultivadas no local ou importada, com a finalidade de preservar e/ou restaurar a produtividade das terras agricultáveis. Esse conceito foi ampliado (Calegari et al., 1993) e engloba, atualmente, o uso de plantas em rotação, sucessão ou consorciação, incorporando-as ou deixando-as na superfície, visando ao seguinte:

- a) cobertura e proteção superficial do solo;
- b) manutenção e/ou melhoria das características físicas, químicas e biológicas;
- c) aração biológica e introdução de microrganismos em profundidade;
- d) produção de sementes, fibras, alimentação humana e animal, etc.

Estudos utilizando técnicas empregando o isótopo ¹⁵N mostram que leguminosas usadas como adubação verde, no Brasil, podem ter entre 52 e 96% de todo o nitrogênio fornecido pela FBN. Mesmo leguminosas de grãos podem contribuir com N fixado para outras culturas consorciadas. Caupi contribuiu com 48 kg ha⁻¹ para o milho tanto em cobertura como incorporado (Urquiaga & Zapata, 2000). A poda de leguminosas, em sistemas consorciados com leguminosas arbóreas ou arbustivas (aléias), pode

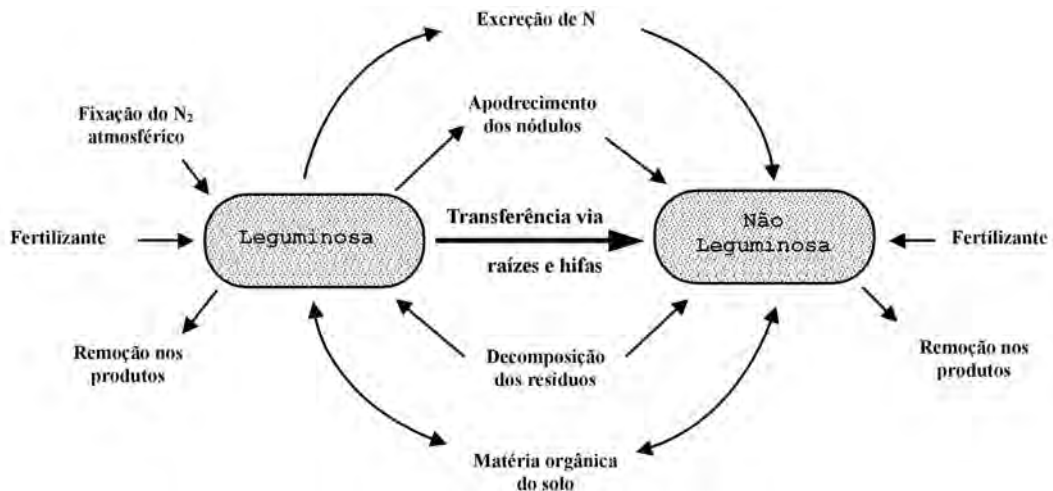


Figura 9.28. Fluxos de N em sistemas de adubação verde com leguminosas fixadoras de N₂ em sucessão, rotação e consorciação. (Wilson, 1988.)

adicionar ao solo nitrogênio em quantidades maiores que 50 kg ha⁻¹. Espécies de crescimento rápido, biomassa abundante e adequado rebrotamento são indicadas para tal prática; entre essas, destacam-se *Leucaena* spp. e *Gliricidia sepium* (Dommergues, 1995). Além da decomposição do material vegetal rico em N, outras contribuições significativas são pela decomposição dos nódulos, que tendem a se soltar das raízes após a poda, e exsudação das raízes e nódulos não destacados durante a poda, podendo a excreção de N por raízes e nódulos também ocorrer em outras condições, além da poda. A contribuição indireta do processo da FBN, através de todos esses mecanismos, pode representar a adição ao solo de 160 kg N ha⁻¹. Hifas de fungos micorrízicos podem promover a transferência de nutrientes, incluindo o N, entre espécies vegetais (ver capítulo 10).

Comparação entre as simbioses actinorrízicas e de BFNN com leguminosas

Como demonstrado, essas são as simbioses mais importantes em termos ecológicos e econômicos. Apresentam similaridades e diferenças como as apresentadas na **tabela 9.36**. As similaridades, principalmente relacionadas aos processos de infecção e funcionamento dos nódulos, servem de modelo para estudos visando, através do entendimento dessas simbioses, à sua transferência para outras espécies vegetais. Já as diferenças, principalmente aquela relacionada à amplitude de hospedeiros em termos numéricos e filogenéticos, mostram a ampla ocorrência e importância desse processo na natureza.

540 Capítulo 9 · Fixação Biológica de Nitrogênio Atmosférico.

Tabela 9.36. Características simbióticas e culturais de bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas (BFNNL) e *Frankia* (Modificado de Moreira, 1994).

Características	BFNNL	<i>Frankia</i>	Referências
Simbióticas			
Famílias botânicas com as quais pode estabelecer simbiose	Leguminosae Ulmaceae	Casuarinaeae, Myricaceae, Betulaceae, Elaeagnaceae, Rhamnaceae, Coriariaceae, Rosaceae, Datisceae	Trinick, 1979 Bond & Wheeler, 1980 Becking, 1982
Número de espécies hospedeiras atualmente conhecidas	≅ 4050	279	Vários, Baker & Mullin, 1992
Tipo de infecção	pêlos radiculares, epiderme, feridas	pêlos radiculares, penetração intercelular	Sprent, 1989 Miller & Baker, 1986
Origem do nódulo	córtex da raiz	periciclo da raiz	
Localização do tecido vascular	externo às células onde estão os bacteróides	no centro do nódulo	
Presença de hemoglobina	+	+	Appleby et al., 1983 Tjepkema, 1984
Culturais			
Temperatura ótima	25 - 30° C	25 - 35° C	Jordan, 1984 Zhongze et al., 1986
pH ótimo	6,0 - 7,0	6,3 - 6,7	Jordan, 1984 Zhongze et al., 1986
Tempo de geração	1,4 a 44,1 horas	24 - 48 horas	Hernandez & Focht, 1984 Zhongze et al., 1986
Inibição da FBN por N-combinado (*)	+	+	Jordan, 1984 Zhongze et al., 1986
Crescimento sob N ₂ (*)	+	+	Jordan, 1984 Zhongze et al., 1986
Nodulação caulinar	+	+	Alazard, 1985 Dreyfus et al., 1988 Prin et al., 1992.

(*) Considerando resultados de algumas estirpes.

9. 9. Simultaneidade de ocorrência: sistemas fixadores de N₂

Como foi visto no capítulo 3, o solo é dinâmico, complexo e heterogêneo. Essas características podem estender-se aos sistemas fixadores de N₂, pois, nos ecossistemas, vários fixadores simbióticos, associativos e de vida livre, podem estar ocorrendo e contribuindo simultaneamente para a nutrição vegetal. Um sistema bastante ilustrativo desse fato é a cultura de arroz inundada. Em vista do transporte de O₂ da parte aérea até as raízes, além de sua baixa difusão na água, formam-se diversas zonas aeróbicas e anaeróbicas, sendo as primeiras ainda constituídas de zonas microaeróbicas. Essa diversidade de nichos, que inclui os tecidos internos vegetais, proporciona uma diversidade de espécies microbianas (**Figura 9.29**), realizando vários processos além da FBN, como fotossíntese, decomposição da matéria orgânica, oxidação de metano e enxofre e redução de sulfatos (ver capítulo 7).

A rizosfera de leguminosas também pode ser um *habitat* adequado para outros fixadores, além de BFNNL. Aumentos significativos da inoculação conjunta de *Azospirillum* spp. com BFNNL em relação a BFNNL inoculadas isoladamente foram obtidos para *Arachis hypogaea* (amendoim), *Cicer arietinum*, *Trifolium repens*, *T. subterraneum*, *Pisum sativum*, *Vicia sativa* (ervilhaca comum), *Vicia faba*, *Phaseolus vulgaris*, *Medicago polymorpha*, *M. sativa* (alfafa) e *Glycine max* (soja). Da mesma forma, a rizosfera de gramíneas pode abrigar populações significativas de BFNNL, favorecendo seu estabelecimento no solo e favorecendo o cultivo posterior de leguminosas. Resultados expressivos foram encontrados para arroz, cevada e milho, favorecendo o estabelecimento de *Bradyrhizobium* e aumentando a produção da soja plantada após essas culturas. Deve-se ressaltar que, nesses casos, as gramíneas não formam nódulos em hipótese alguma, mesmo com BFNNL, assim como leguminosas só podem ser noduladas por BFNN e não com diazotróficos associativos ocorrendo em sua rizosfera. As únicas espécies não leguminosas (*Parasponia* spp.) noduladas por BFNN (*Bradyrhizobium* sp.) pertencem à família Ulmaceae.

Dakora (2003) ressalta que as principais contribuições das BFNN e das leguminosas, separadamente, além da FBN, têm sido amplamente ignoradas. As BFNN produzem moléculas químicas que podem influenciar o crescimento de plantas, incluindo fitormônios, fatores *nod* lipoquitooligossacarídeos, lumicromo, riboflavina e H₂ evoluído da nitrogenase. Os fatores *nod* podem estimular a germinação de sementes e promover aumentos de produção tanto de leguminosas como não leguminosas. Populações de patógenos podem ser suprimidas tanto por BFNN como por compostos fenólicos produzidos por leguminosas. A disponibilidade de nutrientes, como o fósforo, pode ser aumentada por BFNN solubilizadoras ou por fenólicos e ácidos orgânicos exsudados pelas leguminosas.

Portanto, a inoculação conjunta de diazotróficos, que, além da FBN, podem contribuir através de outros mecanismos, e de outras RPCP, pode representar uma linha de pesquisa promissora com relação ao manejo desses organismos, além de se aproximar das condições de diversidade e complexidade de interações existentes no solo.

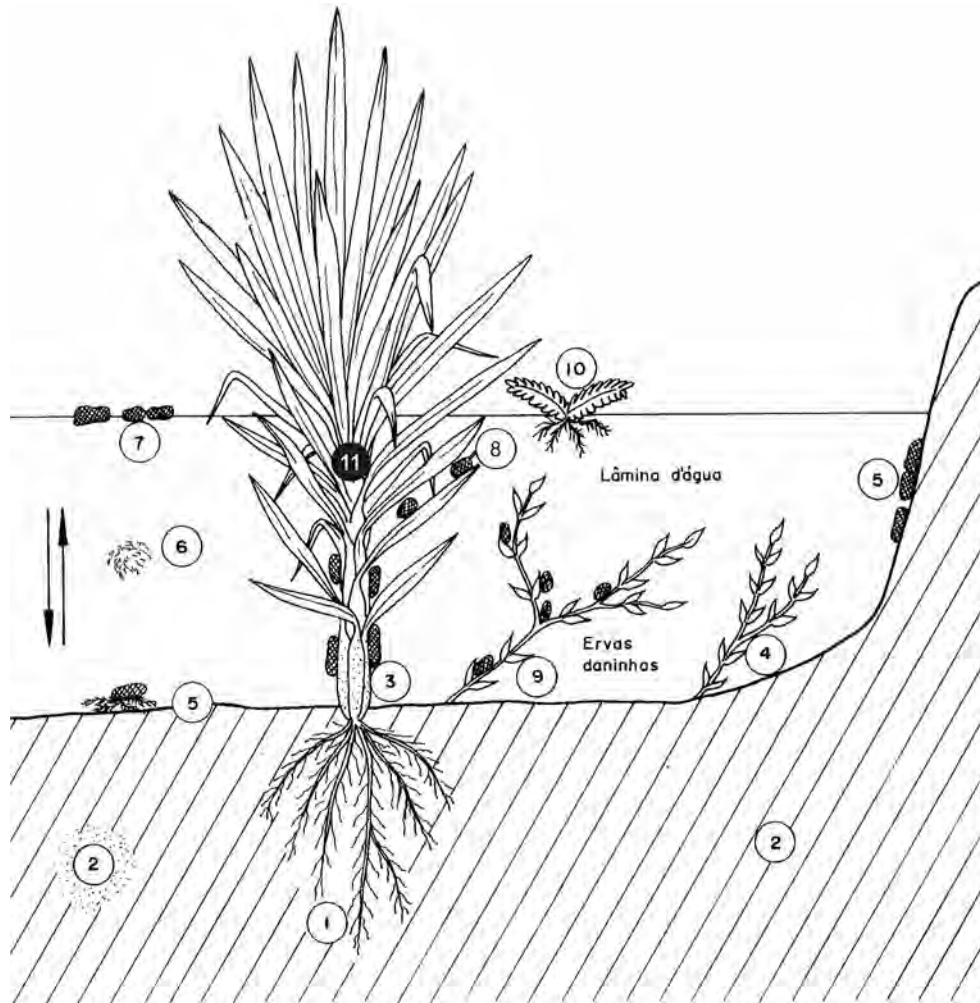


Figura 9.29. Principais bactérias fixadoras de N_2 em diversos nichos do sistema de arroz inundado (modificado de Kulascorya et al., 1980 e Watanabe & Roger, 1984). 1 - rizosfera; 2 - solo; 3 - epifíticas no arroz; 4 - epifíticas em plantas invasoras; 5 - cianobactérias na interface água-solo; 6 - flutuante; 7 - na interface água-ar; 8 - epifíticas no arroz; 9 - epifíticas em plantas invasoras; 10 - em simbiose com *Azolla* (*Anabaena/Nostoc azollae*); 11 - endofíticas.

Água de inundação e superfície do solo: cianobactérias de vida livre (*Nostoc*, *Anabaena* e outras), cianobactérias epifíticas (*Nostoc*, *Calothrix* e outras); bactérias fotossintéticas (*Rhodospseudomonas*, *Rhodospirillum* e outras), bactérias oxidantes de metano (*Methylomonas* e outras) e enxofre (*Thiobacillus*), bactérias aeróbias heterotróficas (*Azotobacter*, *Dexia*, *Beijerinckia*), bactérias microaerofílicas (*Azospirillum*); **Solo anaeróbico:** bactérias anaeróbicas facultativas (*Bacillus*), bactérias estritamente anaeróbicas (*Clostridium*, *Propionibacterium*), redutoras de sulfato (*Desulfovibrio*); **Plantas:** bactérias microaerofílicas (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*), aneróbias facultativas (*Enterobacter*, *Klebsiella*); **Endofíticas:** *Pantoea agglomerans*, *Azoarcus* spp., *Curtobacterium*, *Serratia alcaligenes*, *Azospirillum* spp., *Methylobacterium*.

Capítulo 10

Micorrizas

10.1. Origem da simbiose e evolução da micorrizologia

Os microrganismos são os seres vivos mais primitivos do planeta cuja origem data de bilhões de anos. Ao longo do processo evolucionário, adquiriram características e adaptabilidades para coexistência com outros seres vivos, estabelecendo relações diversas em forma e função. Entre as inúmeras relações biológicas existentes, destacam-se as simbioses entre plantas e microrganismos heterotróficos, como as micorrizas, que são associações mutualistas 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, compreendido entre 462 e 352 milhões de anos. Os fungos saprofiticos surgiram em período muito anterior, há cerca de um bilhão de anos, e tiveram longo período para evoluir estratégias elaboradas para colonizar os tecidos vegetais e estabelecer mutualismo com as plantas.

Na luta pela sobrevivência, fungos e plantas desenvolveram a capacidade de se comunicarem molecularmente, através de mecanismos de reconhecimento, tropismo e tactismo que permitiram a interação célula-célula e a integração morfológica e funcional, requisitos essenciais à formação de uma relação simbiótica estável, como se verifica nas micorrizas. O surgimento de relações como essa permitiu a coexistência de tais parceiros dissimilares, facilitando a evolução, a diversidade das espécies e a colonização do *habitat* terrestre, tornando as micorrizas um fenômeno generalizado na natureza.

Apesar de sua origem tão antiga, as associações entre fungos e raízes só foram observadas com detalhes no início do século XIX, em 1842, quando Nágeli fez a primeira descrição da associação fungo-raiz, ao que parece seria uma micorriza arbuscular; essas só foram reconhecidas e tratadas cientificamente no final daquele século. Em 1885, o alemão Bernard Frank, um fisiologista de plantas, distinguiu entre micorrizas ectotróficas e endotróficas e desenvolveu estudos científicos sobre a anatomia e a ocorrência dessas associações, especulando sobre os possíveis benefícios para as plantas. Frank, além de descrever tais associações, empregou, pela primeira vez, o termo “mycorrhiza”, originado do grego (myco = fungo, e rhiza = raízes), para se referir a essa relação peculiar, termo que mais tarde passou a ser escrito com mais um r (mycorrhiza), micorriza em português. Nos anos seguintes, o pesquisador aprofundou seus estudos, descrevendo e lançando as bases funcionais dessa simbiose. Por esse feito Frank é considerado o pai da micorrizologia. Os anúncios de sua descoberta geraram

muita polêmica com relação à natureza da associação, se mutualista ou parasítica. Sua proposição de que as micorrizas eram benéficas para as plantas foi amplamente contestada pelos estudiosos da época, especialmente pelos fitopatologistas que a consideravam como doença, até que o próprio Frank provou experimentalmente sua natureza mutualista, afirmando tratar-se de “*um órgão morfológicamente característico e com dependência fisiológica íntima e recíproca*”, não cabendo mais qualquer contestação sobre a natureza mutualista das micorrizas.

Não se conhece o processo evolucionário que deu origem às micorrizas, mas juntamente com os líquens, é a forma mais antiga de relação simbiótica envolvendo organismos heterotróficos com autotróficos, com formação de estruturas fisiológicas especializadas. Considera-se provável que as micorrizas tiveram alguma relação evolucionária com os líquens, que são associações entre fungos e algas. Há indicações de que os fungos fitossimbióticos originaram-se de saprofitos obrigatórios que adquiriram, ao longo do processo evolutivo, alto grau de compatibilidade genética e funcional com os parceiros autotróficos. Inicialmente, eles colonizavam apenas a rizosfera e a superfície das raízes, passando, posteriormente, a desenvolver mecanismos que permitiram a penetração das raízes inter e intracelularmente. Como resultado da evolução da relação, alguns grupos de fungos perderam a capacidade saprofítica, tornando-se essencialmente biotróficos, isto é, nutrem-se de tecidos vivos. Nas relações simbiotróficas mutualistas, o fungo perdeu sua capacidade de patogênese e adquiriu regulação na capacidade de síntese e atividade de enzimas hidrolíticas que causam citólise e necroses das células do hospedeiro. Isso resultou em alta compatibilidade funcional, culminando com um mutualismo bem balanceado caracterizado por fluxos bidirecionais de fotoassimilados e de nutrientes inorgânicos. Baseando-se nisso, as micorrizas são consideradas o “*ultimato de um processo co-evolucionário que resultou em benefícios mútuos*”.

Entretanto, nem todos os fungos que habitam as raízes formam micorrizas. Muitos vivem na rizosfera ou crescem na superfície das raízes sem nenhuma comunicação ou efeitos diretos sobre estas. Relações desse tipo são geralmente consideradas neutralistas e, quanto ao critério locacional, chamadas *associações peritróficas*. Também colonizam as raízes e seus tecidos diversos fungos patogênicos que podem assim ser considerados:

- a) patógenos especializados: aqueles que produzem enzimas e toxinas;
- b) patógenos não especializados: aqueles que atacam tecidos jovens das raízes.

Todos esses fungos, portanto, são colonizadores de raízes vivas, porém não são micorrízicos, que por definição, restringem-se aos simbiotróficos mutualistas, isto é, crescem e se nutrem em tecidos vegetais vivos sem causar disfunções dos tecidos ou danos permanentes ao hospedeiro; ao contrário, trazem benefícios para a planta hospedeira e beneficiam-se da relação. O simbiotrofismo, que corresponde à vida conjunta entre fungos e raízes, pode ser:

- a) facultativo: quando o fungo ainda mantém certa capacidade saprofítica e pode viver (completar seu ciclo) associado às raízes ou saprofiticamente. São capazes de crescer em meio de cultura sem células vivas do hospedeiro;

b) obrigatório: quando o fungo perdeu, ao longo do processo evolutivo, a capacidade saprofítica, só completando seu ciclo na presença de células vivas do hospedeiro.

Os fungos associam-se às raízes por serem incapazes de realizar a fotossíntese e, assim, obtêm carbono e outros nutrientes da planta hospedeira. A associação com as raízes torna-se essencial para o ciclo daqueles que não possuem vida saprofítica, sendo a parceria favorecida pela:

- a) existência de um biotrofismo bem desenvolvido, balanceado e permanente;
- b) alta compatibilidade estrutural e fisiológica entre os parceiros;
- c) habilidade dos simbiosomas de atuar de maneira regulável, controlando assim os benefícios mútuos da relação.

Desde a época de Frank e seus seguidores, no século XIX, as micorrizas têm sido amplamente estudadas quanto seus efeitos sobre as plantas. Esses estudos culminaram com as evidências experimentais, necessárias para a consolidação do caráter mutualista da simbiose, defendido por Frank no final século XIX, despertando, desde aquela época, grande interesse da comunidade científica e tecnológica mundial. Para se ter uma idéia da evolução da micorrizologia, enquanto em meados do século XX, na década de 50, eram publicados menos de 100 trabalhos sobre micorrizas por ano, no final daquele século esse número atingiu cerca de 1.000 artigos científicos anuais. Atualmente há um grande volume de publicações, que têm abrangência muito diversa. Os estudos têm enfoques acadêmicos que buscam conhecer as bases biológicas do sistema e seu funcionamento, como também enfoques práticos visando:

- a) aumentar a produção de plantas em solos marginais;
- b) facilitar a recuperação de áreas degradadas e solos contaminados;
- c) reduzir o uso de insumos químicos, principalmente de fertilizantes e, assim, contribuir para alcançar uma agricultura mais sustentável e menos dependente de insumos manufaturados.

Numa análise sobre as tendências ocorridas nos últimos cinquenta anos, verifica-se muita ênfase em estudos de laboratório e na fisiologia e ecologia da associação, sendo raros os estudos detalhados e de longa duração em campo, sem os quais a aplicação dos fungos micorrízicos em larga escala terá pouca chance de sucesso.

A história contemporânea da micorrizologia tem sido objeto de várias publicações como a de Rayner (1927), sendo os avanços mais recentes em Koide & Mosse (2004). Destacam-se os estudos científicos pioneiros e a formação de recursos humanos desenvolvidos especialmente na Estação Experimental de Rothamsted em Harpenden, na Universidade de Oxford, ambas no Reino Unido, e na Universidade de Illinois (EUA), liderados por Barbara Mosse, Jack Harley e James Gerdemann respectivamente. Também tiveram importância marcante no desenvolvimento dessa área a realização NACOM (North American Conference on Mycorrhiza) e do ESM (European Symposium on Mycorrhiza), os quais passaram a ser realizados em conjunto, dando origem a ICOM (International Conference on

Mycorrhiza). A ICOM representa um importante marco na micorrizologia moderna, sendo realizada, primeiramente, em Berkeley (EUA) em 1996, estando já em sua quinta edição.

No Brasil, o primeiro trabalho documentado sobre as micorrizas foi realizado em 1970 pela Dra. Lilian Tomazini, da UNESP de Rio Claro (SP), que estudou a colonização das raízes de plantas do cerrado. Ainda no final daquela década, realizou-se no Instituto Agrônomo de Campinas (SP), sob a coordenação do Dr. Eli Lopes, um curso intensivo sobre endomicorrizas, contando com participantes de vários Estados, constituindo a semente da micorrizologia brasileira. Dos seus participantes, movidos pelo entusiasmo, dedicação e profissionalismo do coordenador do curso e dos instrutores de Harpenden-Inglaterra, Dra. Barbara Mosse e David Hayman, autoridades mundiais em endomicorrizas, surgiram diversos líderes dos grupos mais atuantes nessa área do País. O interesse e a pesquisa em micorrizas no país consolidaram-se com a realização da I Reunião Brasileira sobre Micorrizas (REBRAM), em Lavras, em outubro de 1985. Os avanços e o estado atual da pesquisa no Brasil foram avaliados por Mendonça & Oliveira (1996), tomando como base os quase 400 trabalhos apresentados nas cinco reuniões realizadas até 1994, e por Siqueira & Klauberg-Filho (2000) com base nos trabalhos brasileiros publicados em periódicos indexados. É evidente a ênfase em pesquisa com micorrizas arbusculares, sendo a maioria dos trabalhos relacionado a estudos em ecossistemas manejados e, ainda raros, aqueles desenvolvidos em ecossistemas naturais. Essa tendência está se modificando, devido à conscientização da importância ecológica das micorrizas no ecossistema. Mais recentemente, avolumaram-se os estudos sobre os efeitos das micorrizas em plantas não cultivadas, especialmente espécies arbóreas. A maioria desses trabalhos foi realizada em condições controladas, refletindo, de certo modo, uma tendência mundial e o estágio ainda incipiente da área. Ao longo das últimas duas décadas, grande volume de informações tem sido gerado pelos levantamentos da ocorrência de fungos do tipo micorrízico arbuscular (FMAs) em diversos ecossistemas (Stürmer & Siqueira, 2006). Entretanto, os estudos são concentrados no Sudeste do País. As micorrizas têm enorme potencial de aplicação na agricultura brasileira, mas nossa pesquisa tem sido muito fragmentada, sem convergência e a maioria dos projetos sofre com a descontinuidade, salvo raras exceções, como o programa de pesquisa com cafeeiro desenvolvido ao longo de doze anos na UFPA (Saggin-Júnior & Siqueira, 1996). A insuficiência de resultados reais e consistentes, em campo e a incapacidade de multiplicar os FMAs em laboratório têm comprometido os avanços necessários, para aplicação em larga escala, dos fungos formadores das micorrizas.

10.2. Tipos de micorrizas

Desde a época de Frank, já era evidente que as micorrizas representam uma variedade de associações que ele separou em ectotróficas e endotróficas, termos não mais empregados. Atualmente, a separação em grupos ou tipos pode variar, dependendo do autor ou do enfoque dado, mas a tendência atual é a categorização em sete tipos distintos, listados e caracterizados resumidamente na **tabela 10.1** e comentados a seguir. As micorrizas arbusculares e as ectomicorrizas são abordadas com mais detalhes neste livro, mas para informações adicionais, consultar Varma & Hock (1995) e Smith & Read (1997).

Tabela 10.1. Principais características diferenciais dos tipos de micorrizas (Baseado em Smith & Read, 1997; Brundrett et al., 1996).

Característica	Arbuscular	Ecto ¹	Ectendo ²	Arbutóide	Monotropóide	Ericóide	Orquídoide
1. Fungo							
Septado	-	+	+	+	+	+	+
Asseptado	+	-	-	-	-	-	-
2. Colonização							
Intracelular	+	-	+	+	+	+	+
Hifas enroladas	+/-	-	+	+	-	+	+
Rede de Hartig	-	+	+	+	+	-	-
Vesículas	+/-	-	-	-	-	-	-
Arbúsculos	+	-	-	-	-	-	-
3. Manto fúngico	-	+	+/-	+/-	+	-	-
4. Plantas com clorofila	+	+	+	+/-	-	+	+/-
5. Alteração da raiz	-	+	+	+	+	-	-
6. Especificidade	-	+/-	+	+	+	+	+
7. Predominância	Cosmopolita	Temperado	Temperado	Temperado	Temperado	Heathland	Temp ³ /Trop ⁴
8. Classificação do fungo	Zigo ⁵	Bas ⁶ /Asco ⁷	Bas/Asco	Bas	Bas	Asco	Bas
9. Classificação da planta	Gim ⁸ /Ang ⁹	Gim/Ang	Gim/Ang	Ericales	Monotropa	Ericales	Orquidaceae

¹Ectomicorriza; ²Ectendomicorriza; ³Temperado; ⁴Tropical; ⁵Zigomiceto (atualmente proposto a divisão Glomeromycota); ⁶Basidiomiceto; ⁷Ascomiceto; ⁸Gimnosperma; ⁹Angiosperma.

Micorrizas arbusculares (MAs): é a designação mais recente para as então denominadas micorrizas vesículo-arbusculares. Essas são formadas por fungos classificados como Glomeromycota, que são asseptados e colonizam as raízes de plantas de quase todos os gêneros das Gimnospermas e Angiospermas, além de alguns representantes das Briófitas e Pteridófitas. As indicações apontam que 80% das espécies vegetais formam esse tipo de micorriza. O fungo coloniza as células do córtex inter e intracelularmente, de modo muito característico, formando *os arbúsculos*, estruturas intra-radulares altamente ramificadas e típicas das MAs. Em alguns grupos taxonômicos, formam-se também *as vesículas*, hifas com dilatações terminais, estruturas ilustradas na **figura 10.1**. Nas MAs, não há evidências de especificidade hospedeira e nem ocorrem alterações morfológicas macroscópicas nas raízes colonizadas, sendo a presença da associação detectada apenas através de observações microscópicas de raízes clarificadas e coloridas com corantes especiais. O micélio externo dos fungos formadores dessas micorrizas possui características típicas com ramificações e projeções angulares e hifas principais cenocíticas, com formação de esporos característicos, como ilustrado na **figura 10.2**. Outros aspectos são abordados mais adiante neste capítulo.

As *ectomicorrizas* são formadas, na maioria, por fungos septados em geral pertencentes aos Basidiomicetos, que só penetram intercelularmente no córtex das raízes, com formação de estrutura anatômica característica, a rede de Hartig, substituindo a lamela média e também ocorrendo a formação do manto fúngico ao redor das raízes (**Figura 10.3**). Esse tipo de micorriza se caracteriza ainda pelas intensas modificações morfológicas das raízes colonizadas, sendo típico de árvores de clima temperado, como as coníferas (ex.: *Pinus*). Juntamente com as MAs, as ectomicorrizas são os tipos de maior frequência na maioria dos ecossistemas e, por isso, os mais importantes. As principais características diferenciais de ambos encontram-se na tabela 10.1 e nas ilustrações deste capítulo.

As *ectendomicorrizas* possuem muitas das características das ectomicorrizas, apresentam rede de Hartig grossa e alto grau de penetração intracelular, especialmente nas partes mais velhas da raiz. Ocorrem, principalmente, em membros das coníferas como no gênero *Pinus* e o fungo denominado “E-strain”, originalmente classificado na Endogonaceae e, depois, como Ascomiceto (discomiceto operculado) do gênero *Tricharina* (*T. mikolae*). Esse fungo estabelece ectendomicorriza com *Pinus resinosa*, produzindo clamidosporo e sendo encontrado, predominantemente, em solos minerais sob intensa interferência antrópica. *Wilcoxina mikolae* e *W. rehmsii* são outras espécies desses microsimbiontes que existem, predominantemente, em solos orgânicos e não produzem clamidosporos. Outro fungo ectendomicorrízico, descrito por Melin na década de 20, é o *Mycilium radialis atrovirens*, que coloniza os gêneros *Pinus* e *Picea* sem formar rede de Hartig ou manto. Entretanto, culturas puras desses fungos mostraram que eles representam diferentes gêneros: *Phialophora finlandis*, *Chloridium paucisporum* e *Phialocephali fortinii*. Em *Pinus*, a ectendomicorriza dá lugar à ectomicorriza quando as mudas se desenvolvem, razão pela qual esse tipo de micorriza é mais comum em mudas de viveiros nas regiões temperadas. Já *Mycilium radialis atrovirens* surge em plantios adultos como, por exemplo, de *Pinus banksiana* com mais de 100 anos. Em estudos realizados no Canadá, verificou-se que esses fungos substituem os E-strain (E₃) em plantios de *Pinus*. Análises, empregando marcadores moleculares como RFLP nos genomas nucleares e mitocondriais do “E-strain”, revelaram que a maioria se enquadra no gênero *Wilcoxina* e seus efeitos sobre o hospedeiro não são ainda bem conhecidos.

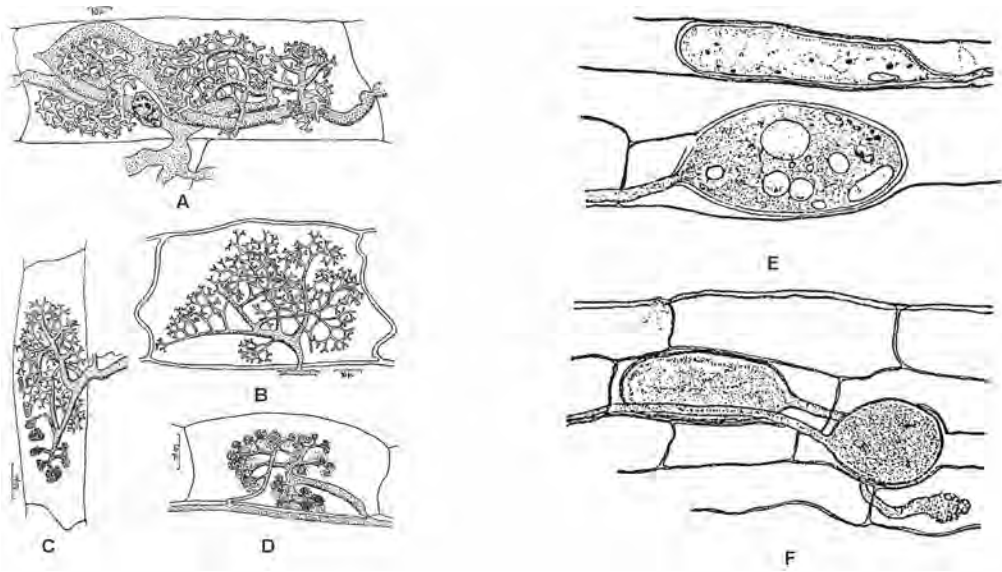


Figura 10.1. Estruturas típicas das micorrizas arbusculares. A-D = arbúsculos; E-F = vesículas. (Butler, 1939.)

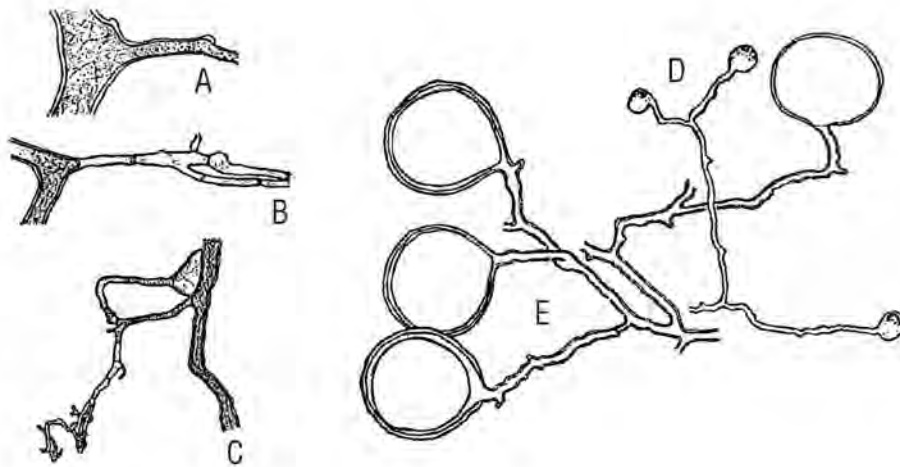


Figura 10.2. Detalhes das hifas extra-radulares (A, B, C) com projeções angulares típicas desses fungos e esporos extra-radulares (D e E). (Butler, 1939.)

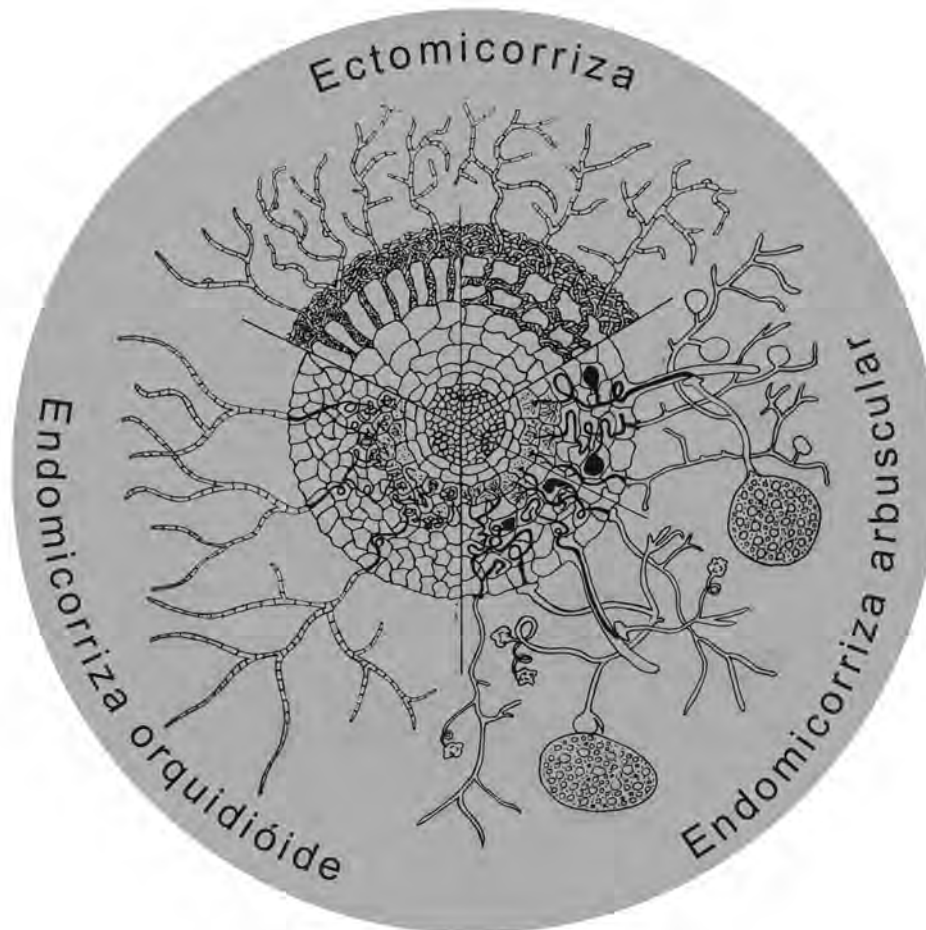


Figura 10.3. Representação esquemática de diferentes tipos de micorriza em corte transversal. (Prager, 1999.)

As micorrizas arbutóides se dão nos gêneros vegetais *Arbutus*, *Arctostaphylos* e *Pyrola*, e as monotropóides em *Sarcodes*, *Pterospora* e *Monotropa*, todos pertencentes à ordem Ericales. Nesse tipo de micorriza, há penetração intracelular, estando outras características das ectendos e ectomicorrizas presentes em algumas combinações fungo-hospedeiro. *Monotropa uniflora*, por exemplo, forma micorrizas com espécies fúngicas de *Lactarius* e *Russula*, ambos membros da Russulaceae. Em *Arbutus* e *Arctostaphylos*, vários basidiomicetos como *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius sahufluus*, *Rhizopogon vinicolor*, *Pisolithus tinctorius*, *Thelephora terrestris* e *Cenococcum geophilum* formam micorrizas. Como esses fungos formam ectomicorrizas em outros hospedeiros, aparentemente é a planta que regula o desenvolvimento da ectendomicorriza, fato esse comprovado em *Arbutus*. A família Monotropaceae consiste em 10 gêneros de plantas efetivamente aclorofiladas, que geralmente crescem em florestas de coníferas. As sementes de *Monotropa* dependem de supri-

mento externo de compostos orgânicos, fornecidos pelo fungo para germinar, sendo este também importante para a divisão celular e absorção de nutrientes do embrião. O estímulo que o fungo causa origina-se do solo ou de outro hospedeiro secundário, como o *Pinus*. O fenômeno da dependência de uma planta aclorofilada a um fungo, também desprovido de clorofila, é chamado *mico-heterotrofia*. Isso ocorre também em orquídeas e estágio gametofítico de Briófitas e Pteridófitas. O fungo pode ter um hospedeiro secundário do qual transfere, via micélio, parte de sua reserva ou da atividade heterotrófica sobre componentes do manto florestal, liberando compostos orgânicos para o hospedeiro monotrópico aclorofilado, desempenhando importante função ecológica em tais ecossistemas. Nesse tipo de simbiose, o movimento de carbono ocorre na mesma direção dos nutrientes minerais e o fungo, que geralmente tem capacidade saprofítica, depende secundariamente de outro hospedeiro fotossintetizante, ao qual se encontra geralmente associado, *Pinus*, na maioria dos casos.

As micorrizas ericóides ocorrem num grupo de plantas bem relacionadas e distribuídas no mundo todo, destacando-se as da família Ericaceae, que cobrem extensas áreas no Hemisfério Norte formando ecossistemas típicos denominados "heathland". No Hemisfério Sul, membros da Epacridaceae são os hospedeiros mais comuns dos fungos ericóides. Com exceção dos gêneros *Arbutus* e *Arctostaphylos*, que formam micorrizas arbutóides, os membros das duas famílias já mencionadas e os das Empetraceae formam as micorrizas ericóides. Poucos gêneros capazes de formar esse tipo de micorrizas são relatados ocorrendo nos trópicos. Apenas espécies de *Rhododendron*, *Vaccinium*, *Epacris*, *Richea*, *Styphelia* e *Empetrum* têm sido encontradas. As micorrizas ericóides têm estrutura delicada e bastante uniforme. O fungo é septado, produz hifas enroladas no interior das células e são muito específicos quanto ao hospedeiro. Nas raízes ericóides, as células epidérmicas não produzem pêlos radiculares, mas são colonizadas intracelularmente pelos fungos, onde estabelecem uma rede complexa de hifas. A penetração ocorre por invaginação da membrana plasmática, podendo o fungo tomar completamente o conteúdo celular, como se verifica em *Calluna vulgaris*. Os fungos que formam as micorrizas ericóides são ainda objeto de controvérsia e muitos estudos. Em *Vaccinium angustifolium*, foi isolado o hifomiceto *Scytalidium vaccinis*. Em *Calluna vulgaris*, isolou-se *Pezizella ericae* (Ascomiceto), mais tarde transferido para *Hymenoscyphus ericae*, existindo a possibilidade de *S. vaccinis* ser um anamorfo de *H. ericae*. *Oidiodendron* sp. também tem sido isolado de raízes de ericales micorrizadas, sendo que *Oidiodendron maius* coloniza raízes de *Rhododendron*. Frutificações de *Clavaria argillacea* são freqüentemente encontradas no solo ao redor de plantas ericáceas na natureza, mas sua capacidade de formar micorriza ainda não foi demonstrada. A colonização das raízes pelos fungos ericáceos certamente é benéfica para o hospedeiro, especialmente quando se considera o fato de que os solos que sustentam esse tipo de vegetação são muito pobres. A colonização das plantas favorece o crescimento e aumenta as concentrações de N e P nos tecidos. *H. ericae* usa $N-NH_4^+$ e o assimila via glutamato desidrogenase e glutamina sintetase. Esse fungo usa também formas complexas de N-orgânico, através de sua atividade peptidolítica e proteolítica, sendo essa atividade enzimática regulada pelo pH do solo: é máxima em condições de elevada acidez (pH 2 a 5) e, praticamente, eliminada em pH acima de 6,0. Esse fungo também exibe elevada atividade de fosfodiesterases, que liberam P inorgânico para as plantas. Além dos efeitos na absorção de N e P, as micorrizas das ericóides favorecem a absorção de outros elementos como Fe, quando este é limitante,

e também protegem o hospedeiro do excesso de metais pesados no solo. O fungo acumula grandes quantidades de metais em seus tecidos e nas mucilagens que ocorrem ao redor das hifas, evitando a absorção ou sua transferência para a planta hospedeira. Portanto, as micorrizas ericóides dão grande contribuição para o crescimento das plantas hospedeiras, tornando-se de grande importância nos solos tipo “heathlands”, que possuem elevados teores de matéria orgânica, alta relação C:N e elevada acidez.

As micorrizas das orquídeas (orquidoides) são formadas por fungos septados que colonizam intracelularmente as raízes formando enrolados de hifas típicos no interior das células (**Figuras 10.3 e 10.4**). A Orquidaceae é uma família numerosa que inclui plantas terrestres, epifíticas e lianas como *Vanilla*. Algumas orquídeas são aclorofiladas e, portanto, mico-heterotróficas. O fungo que coloniza essas plantas é do tipo *Rhizoctonia*, que tem várias “formas” como: *Rhizoctonia repens* (syn. *Tulasnella calospora*), que foi isolado em *Goodyera repens*, *R. solani* (syn. *Thanatephorus cucumeris*), parasita de herbáceas isolado de *Dactylorhiza purpurella*. Outras rizoctonias foram transferidas para o gênero *Ceratorhiza* (*Ceratobasidium*). A orquídea subterrânea *Rhizanthella gardneri* forma simbiose com *Rhizoctonia* spp., que também forma ecto com plantas do gênero *Melaleuca*, a quem *R. gardneri* é normalmente associada. Vários hifomicetos produtores de conídio têm sido isolados de raízes de orquídeas como: *Marasmius coniatus*, *Armillaria mellea* e *Fomes* sp., mas sua capacidade de estabelecer relação simbiótica é ainda pouco estudada. Estudos recentes realizados por pesquisadores da UFV, como Pereira et al. (2005 a.b), relataram, pela primeira vez no País, o isolamento de fungos rizoctonióides de raízes de orquídeas neotropicais de florestas da Mata Atlântica. Estudos taxonômicos revelaram que esses isolados pertencem aos gêneros *Ceratorhiza* e *Rhizoctonia*. Em sequência, os mesmos autores demonstraram a alta especificidade e dependência de sementes da orquídea *Oncidium flexuogum* a estes fungos para germinação e desenvolvimento dos protocórmios.

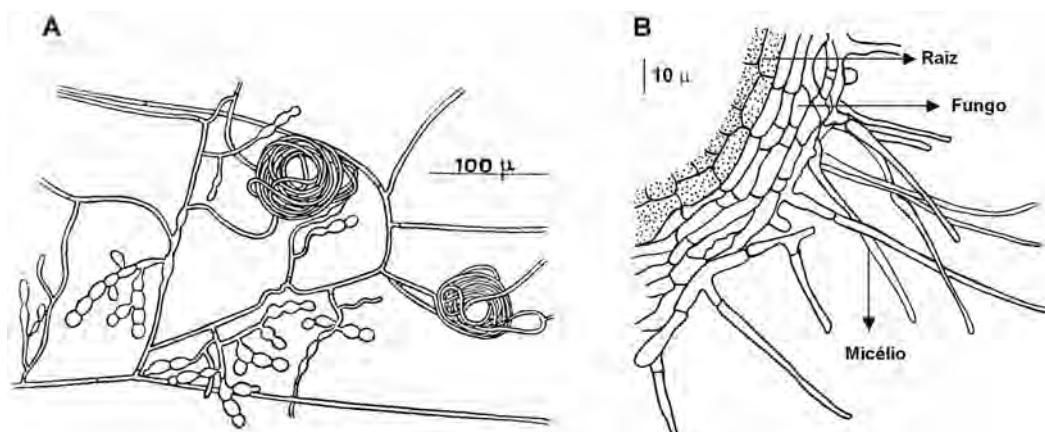


Figura 10.4. Representação de fungo simbiótico em orquídeas (*Rhizoctonia solani*) em cultura pura (Bernard, 1909) (A) e detalhes de Basidiomiceto ectomicorrízico (septado) na superfície da raiz e micélio externo (B).

A associação foi caracterizada pela formação de *pelotons* nas células colonizadas. Vários fungos das orquídeas têm distribuição global como *R. repens* e *R. goodyerae-repentis*, ocorrendo em muitas espécies de orquídeas. Geralmente, os fungos colonizam os protocormos, de onde se espalham de célula em célula, estabelecendo a associação e beneficiando as plântulas que crescem e desenvolvem mais rapidamente que quando assimióticas. O fungo fornece C para a orquídea, obtendo-se este da hidrólise de carboidratos insolúveis do solo, do meio ou de outra planta através da ligação via hifa. A translocação de C-carboidrato e sua entrega para o protocormo simbiótico têm sido confirmadas através de estudos com carbono marcado. Processo semelhante ocorre para os nutrientes inorgânicos. Entretanto, quando a orquídea se desenvolve e torna fotossintetizante, o processo de transferência de C é revertido, ou seja, da planta para o fungo. Nesse caso, a planta torna-se micotrófica, isto é, fornece fotoassimilado para o fungo, que absorve nutrientes do meio de crescimento e os transfere para a planta.

10.3. Micorrizas Arbusculares (MAs)

10.3.1. Origem dos fungos (FMAs)

Como abordado no início deste capítulo, existem fortes evidências de que os FMAs coevoluíram com as plantas terrestres, mas não se conhecem suas origens exatas. Especialistas consideram duas hipóteses prováveis para explicar a origem desses fungos (Sturmer, 1999). A primeira considera que a evolução e conseqüente diversificação das plantas foi possível devido ao estabelecimento de uma simbiose entre uma alga semi-aquática e um microbionte ancestral aquático pertencente aos Oomicetos, atualmente classificado como Chromistas. A segunda hipótese considera que o ancestral das MAs teria afinidades com um Zigomiceto saprofítico com um hábito mais terrestre ao invés de aquático. Essa hipótese parece ser mais plausível, considerando que os FMAs são membros comuns da biota do solo na grande maioria dos ecossistemas terrestres. Também a existência de uma endossimbiose entre o zigomiceto *Geosiphon pyriforme* e cianobactérias do gênero *Nostoc* contribui para a validação dessa hipótese. *G. pyriforme* é saprofítico e cresce na superfície do solo, produzindo vesículas multinucleadas habitadas por bactérias fotossintetizantes. Assim como os FMAs dependem da planta hospedeira para compostos de carbono, *G. pyriforme* deriva seus compostos carbonados das bactérias fotossintetizantes e produz esporos cuja morfologia e estrutura subcelular são similares àqueles formados por *Glomus*, um dos principais gêneros dos FMAs. A seqüência de nucleotídeos do segmento gênico do DNA que codifica o 18S rRNA desse fungo indica sua maior afinidade com os FMAs do que com outros grupos de fungos, sugerindo que essa endossimbiose pode representar um passo intermediário na evolução das atuais MAs.

Evidências em fóssil da formação Rynie, que incluem as mais antigas plantas fossilizadas, como *Aglaopyton*, mostram que elas continham hifas externas e intra-radulares, esporos e arbusculos semelhantes aos do gênero *Glomus*. Do mesmo modo, análises em materiais fossilizados do período Triássico, mostram que eles também apresentam estruturas similares aos arbusculos atuais e esporocarpos similares aos formados em algumas espécies de FMAs. Tais evidências confirmam a origem

antiga, mais de 300 milhões de anos, desse grupo de fungos em simbiose com as raízes. O tempo que tiveram para dispersar e a falta de especificidade por hospedeiro, podem explicar a ocorrência generalizada das MAs nos diversos ecossistemas, como florestas tropicais e temperadas, desertos, dunas, pradarias e sistemas agrícolas (Brundrett, 1991). Esses fungos são, porém, mais raros nos ambientes árticos ou em regiões de tundra, onde domina uma vegetação pouco diversa representada por plantas ericáceas que possuem tipos próprios de micorrizas já mencionados.

As MAs estão atualmente presentes na maioria dos taxa vegetais em nível de ordem e, em todos os níveis hierárquicos abaixo deste, de plantas vasculares, representando “uma regra e não uma exceção na natureza”, sendo a ausência da associação simbiótica um evento restrito a poucas famílias, gêneros ou espécies vegetais. Certamente, a capacidade de formar ou a suscetibilidade à micorrização tem bases evolucionárias, mas as razões para a condição não micorrízica de certos grupos de plantas como as crucíferas que não formam nenhum tipo de micorrizas, embora ainda pouco conhecidas, podem resultar da:

- a) presença de compostos fungistáticos, como glicosinatos nas crucíferas ou outras substâncias com ação antifúngica em outras espécies vegetais;
- b) insuficiência de fatores estimulantes ou sinais moleculares nos exsudatos de certas espécies pouco suscetíveis à micorrização;
- c) deficiências no mecanismo de aderência e reconhecimento celular, eventos cruciais para o início da associação simbiótica;
- d) existência de barreiras físicas na parede do hospedeiro.

10.3.2. Classificação taxonômica dos FMAs

A primeira classificação linneana dos FMAs foi estabelecida no trabalho clássico de Gerdemann & Trappe (1974), que colocaram os organismos formadores das MAs como Zigomicetos, da família Endogonaceae, da ordem Endogonales, estabelecendo, assim, a base taxonômica desses simbiontes. Na classificação, organismos que formam MAs pertencem aos gêneros *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus* e *Sclerocystis*, todos colocados na família Endogonaceae, juntamente com membros dos gêneros *Endogone*, *Glaziella* e *Modicella*. Essa afinidade era justificada apenas pelo hábito esporocárpico da maioria dos FMAs, o qual foi considerado como um caráter importante na classificação. Após 1974, dois gêneros foram excluídos da família Endogonaceae. O *Modicella* foi transferido para Mortierellaceae e o *Glaziella*, para Ascomiceto. Além disso, novo gênero, *Entrophospora*, foi proposto, assim como o *Scutellospora* foi separado de *Gigaspora*.

A classificação de Gerdemann & Trappe (1974) foi aceita por quase duas décadas quando Morton & Benny (1990) estabeleceram uma nova classificação com ênfase na filogenia. Nela, os FMAs foram removidos da ordem Endogonales e colocados em nova ordem Glomales, como um grupo monofilético, ou seja, um grupo de espécies derivadas de um ancestral comum, contendo todos os organismos que formam associações mutualísticas com as raízes das plantas e também formam arbúsculos. De acordo com essa classificação, a ordem Glomales contém duas subordens, Gigasporineae e

Glomineae. A subordem Gigasporineae é formada por uma família, Gigasporaceae, que contém os gêneros *Gigaspora* e *Scutellospora*, cujos organismos produzem esporos numa célula bulbo suspenso-ra, formam células auxiliares e possuem uma camada permanente envolvendo a laminar na parede dos esporos. A subordem Glomineae é formada por duas famílias: Glomaceae, que contém os gêneros *Glomus* e *Sclerocystis*, e Acaulosporaceae, com os gêneros *Acaulospora* e *Entrophospora*. Os fungos da subordem Glomineae formam hifas cilíndricas com ramificações perpendiculares, vesículas dentro das raízes e, os esporos possuem uma ou mais camadas evanescentes envolvendo a laminar na parede. Morton & Redecker (2001) propuseram duas novas famílias com dois gêneros respectivos, Archaeosporaceae (gênero *Archaeospora*) e Paraglomaceae (gênero *Paraglomus*), conforme representado na **figura 10.5**. De acordo com essa classificação, os FMAs acham-se distribuídos em cinco famílias e sete gêneros, desaparecendo o *Sclerocystis*, encontrando-se as principais modificações taxonômicas e nomenclaturais na **tabela 10.2**. A lista completa das espécies de FMAs pode ser encontrada na página do INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>). Schussler et al. (2001), com base na convergência filogenética de características morfológicas, bioquímicas e moleculares, propuseram o agrupamento desses fungos em um novo grupo monofilético, Filo *Glomeromycota*, e nova organização taxonômica, na qual os FMAs pertencem à ordem Glomerales. Nesta nova classificação, a sub-ordem Glomineae passa a ter quatro famílias e a Gigasporineae apenas uma. Embora essa classificação seja bem reconhecida e aceita, este texto manterá, em parte, a adotada pelo INVAM por questão de consistência, comodidade e facilidade didática (Sturmer & Siqueira, 2006).

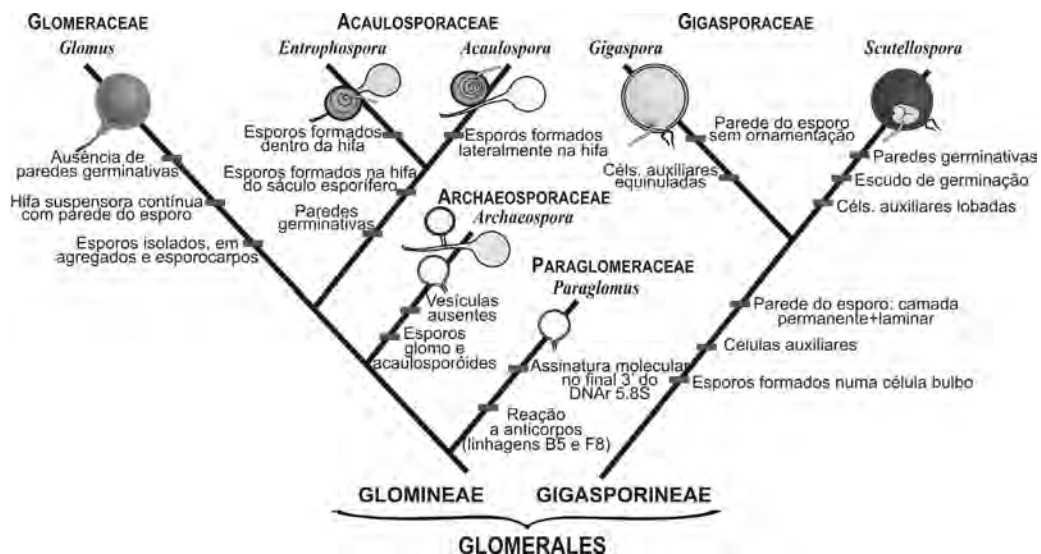


Figura 10.5. Esquema de classificação e respectivas características que definem as famílias e os gêneros dos FMAs. (Stürmer & Siqueira, 2006 com base em informações do INVAM.)

Tabela 10.2. Principais modificações na taxonomia e sinonímia dos fungos glomaleanos conforme INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>).

Família	Gêneros e Espécies	
	Antes	Nomenclatura atual
Acaulosporaceae (37)* Morton & Benny	<i>Acaulospora appendicula</i>	<i>Archaeospora leptoticha</i>
	<i>Acaulospora gerdemannii</i>	<i>Archaeospora gerdemannii</i>
	<i>Acaulospora trappei</i>	<i>Archaeospora trappei</i>
	Gênero <i>Entrophospora</i>	Sem modificação
Archaeosporaceae (3) Morton & Redecker	Não existia a família	Proposta em 2001
		Ver Acaulosporaceae e Glomaceae
Glomaceae (90) Pirozynski & Dalpé	<i>Glomus leptotichum</i>	<i>Archaeospora leptoticha</i>
	<i>Glomus epigaeum</i>	<i>Glomus versiforme</i>
	<i>Glomus fecundisporum</i>	<i>Glomus leptotichum</i>
	<i>Glomus fistulosum</i>	<i>Glomus claroideum</i>
	<i>Glomus gerdemannii</i>	<i>Archaeospora gerdemannii</i>
	<i>Sclerocystis coremioides</i>	<i>Glomus coremioides</i>
Paraglomaceae (2) Morton & Redecker	Não existia a família	Proposta em 2001
	<i>Glomus brasilianum</i>	<i>Paraglomus brasilianum</i>
	<i>Glomus occultum</i>	<i>Paraglomus occultum</i>
Gigasporaceae (36)	<i>Gigaspora cândida</i>	<i>Gigaspora rosea</i>
	<i>Gigaspora ramisporophora</i>	<i>Gigaspora margarita</i>
	<i>Gigaspora tuberculata</i>	<i>Scutellospora persica</i>
	Gênero <i>Scutellospora</i>	Sem modificação

* Indica o número de espécies na listagem do INVAM.
Gênero *Sclerocystis* não existe mais.

Os FMAs são assexuados e o modo de formação dos esporos distingue as famílias e os gêneros. Os esporos em Glomeraceae desenvolvem-se terminalmente (ou, às vezes, intercaladamente) numa hifa suspensora cilíndrica, sendo os esporos formados individualmente ou em agregados e esporocarpos. Na família Acaulosporaceae, ocorre a formação de um sáculo esporífero prioritariamente ao desenvolvimento dos esporos na lateral (em *Acaulospora*) ou dentro (em *Entrophospora*) da hifa suspensora. Nas duas novas famílias, Archaeosporaceae e Paraglomeraceae, os esporos são formados em talo da hifa esporógena. Em Gigasporaceae, são formados individualmente a partir de uma célula bulbo por brotação. Os padrões de desenvolvimento dos esporos também determinam as propriedades de suas paredes, externas e internas e com origem independente, constituindo critério importante para classificação. As variações em nível de espécie ocorrem apenas nas divergências fenotípicas, no número e propriedades das camadas que formam a parede do esporo. Esse padrão é evidente nos esporos de *Glomus* e *Gigaspora*, visto que os gêneros não possuem paredes internas. No grupo de *Scutellospora fulgida*, *S.*

verrucosa, *S. persica*, *S. gregaria* e *S. coralloidea*, ocorre apenas uma parede interna flexível, onde constitui o chamado escudo germinativo característico, com forma e cor semelhante ao esporo. Essas espécies são diferenciadas por cor e tamanho dos esporos, presença ou ausência de ornamentação, tipo e tamanho das ornamentações na parede.

Estudos moleculares indicam que as famílias Acaulosporaceae (subordem Glomineae) e Gigasporaceae (subordem Gigasporineae) são consideradas como grupos afins que compartilham um ancestral comum, enquanto a família Glomeraceae (subordem Glomineae) forma um grupo à parte. Atualmente, considera-se que os FMAs surgiram de eventos distintos, sendo, portanto, uma ordem polifilética, ou seja, um grupo de espécies unido por caracteres convergentes onde as duas subordens, Glomineae e Gigasporineae, representam duas linhas evolutivas que não compartilham de um ancestral comum. Os arbúsculos, formações estruturais típicas das MAs, diferem nas diversas combinações fungo-planta. Nos membros da Gigasporineae, possuem uma base grossa (5-12 μm) e se ramificam abruptamente, enquanto em Glomineae possuem uma base mais fina (2-8 μm) e se ramificam gradualmente. Em Gigasporineae, ocorre a formação de agregados de células auxiliares fora das raízes, mais abundantes durante os estádios iniciais da esporulação. Essas estruturas não são encontradas em Glomineae, que produzem estruturas globosas chamadas vesículas, também formadas dentro das raízes e consideradas órgãos de reserva.

Os tipos de propágulos infectivos capazes de iniciar uma nova micorriza também diferem entre as subordens. Em Glomineae, todas as partes do fungo, como esporos extra e intra-radiculares, vesículas e hifas extra-radiculares, são potencialmente viáveis e infectivos. Em Gigasporineae, há evidências de que apenas os esporos funcionam como propágulos infectivos, uma vez que as células auxiliares não são aptas a iniciar colonização e as hifas extra-radiculares não são infectivas. As duas subordens também diferem nos estádios iniciais da formação dos esporos (Figura 10.5). Em Glomineae, os esporos de *Glomus* e os sáculos esporíferos, em *Acaulospora* e *Entrophospora* desenvolvem-se basicamente a partir de uma hifa esporógena. O modo de formação dos esporos em algumas espécies dentro dessa subordem é uma evidência adicional de que as famílias Glomeraceae e Acaulosporaceae têm relações filogenéticas.

Como visto, os tipos e a organização das diversas estruturas subcelulares dos esporos assexuados dos FMAs são a base para sua taxonomia, sendo empregados na identificação das espécies os seguintes caracteres: cor, tamanho, forma, estrutura da parede e reação ao reagente de Melzer, além da ontogenia dos esporos que auxilia na definição das estruturas subcelulares. Os estudos sobre a ontogenia (desenvolvimento dos esporos), assim como de desenvolvimento da simbiose, têm sido empregados na redescritção das espécies, aumentando a resolução na hierarquia taxonômica que cada caráter ou grupo de caracteres pode distinguir. Estruturas vegetativas como os arbúsculos distinguem as duas subordens: Gigasporineae e Glomineae, e as vesículas distinguem as três famílias da ordem Glomerales, sendo ausentes em Gigasporineae. Estas são oblongas e elípticas, coram fortemente em azul-de-tripano em Glomaceae, e são irregulares, colorindo de modo pouco intenso em Acaulosporaceae. As células auxiliares, estruturas extra-radiculares formadas no micélio, diferem bastante e são empregadas para separar os gêneros na família Gigasporaceae, cujas ornamentações das células são equinuladas em *Gigaspora* e nodosas em *Scutellospora*. Diferenças morfoanatômicas

da colonização são também de utilidade na diferenciação das MAs ao nível de gênero. Atualmente, empregando-se esses critérios taxonômicos, identificam-se cerca de 168 espécies de FMAs, sendo algumas de maior interesse mencionadas ao longo deste capítulo e em listagem disponível na página do INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>), e aquelas de ocorrência mais freqüente nos ecossistemas brasileiros, listadas em Sturmer & Siqueira (2006).

As diferenças genotípicas entre isolados fúngicos de FMAs têm sido pouco estudadas, mas já são conhecidas características discriminadoras, como eficiência na absorção de P, efeitos no crescimento do hospedeiro, tolerância a fatores estressantes como acidez do solo e metais pesados. Utilizando técnicas moleculares como PCR-RFLP, é possível detectar diferenças genéticas em esporos morfológicamente similares da mesma espécie. O seqüenciamento da região do Intra-genic Transcribed Space (ITS) para algumas espécies tem revelado uma diversidade genética considerável e inesperada, considerando que os FMAs se reproduzem assexuadamente. Essa variabilidade genética pode ser resultante de núcleos geneticamente distintos (heterocariose) dentro de um mesmo esporo ou da presença de genes heterogêneos dentro de um mesmo núcleo. O desenvolvimento dos esporos ocorre por embriogênese somática e o micélio vegetativo não é geneticamente homogêneo, pois é multinucleado. Trata-se, portanto, de um cenário muito complicado do ponto de vista biológico quando se pretende tipificar um indivíduo ou população de FMAs. Os esporos assexuais produzidos podem ser contados e tradicionalmente servem de base para a análise quantitativa de populações. No entanto, por essas considerações, não devem ser considerados indivíduos, visto possuírem vários núcleos geneticamente distintos. Esse aspecto, aliado ao comportamento de biotrófico obrigatório, limita muito o estudo sobre a biologia e a relação ecológica desses fungos.

Apesar de representar um grupo pouco numeroso de fungos simbioses com as plantas, os FMAs possuem alta diversidade genética, com importante papel na sua plasticidade fisiológica e ecológica, contribuindo para a natureza cosmopolita desses fungos. Os FMAs incluem espécies com caracteres fenotípicos e bioquímicos avançados e primitivos, tais como *Glomus occultum* e *Glomus intraradices*, que têm sido encontrados em todos os continentes, exceto na Antártica; ocorrendo em diversos *habitats*, em regiões tropicais e temperadas e em climas áridos e mésicos. A análise da distribuição geográfica desses fungos indica que são pandêmicos. Existem alguns resultados mostrando que certas espécies têm uma distribuição mais restrita, mas sem evidência de endemismo nesses fungos, que são de fato cosmopolitas. Padrões biogeográficos não têm sido identificados concretamente para espécies, gêneros ou famílias de FMAs.

O modo de dispersão dos FMAs tem sido pouco estudado. Sabe-se, porém, que os ventos em ambientes áridos e os roedores e pássaros em florestas tropicais, são importantes agentes de dispersão natural dos esporos. Os estudos de levantamento das espécies de FMAs em diferentes ecossistemas fornecem os dados para avaliar os padrões de distribuição quando acompanhados de uma descrição completa do ambiente, como: ecossistema, comunidade, planta hospedeira, fatores edáficos, localidade, estado e país, entre outras. Além disso, o uso de culturas armadilhas deve ser incorporado nos estudos de ocorrência de FMAs, visto que a ausência de esporulação de uma espécie não indica, necessariamente, a ausência do fungo naquele ecossistema, pois pode estar presente em forma não

esporulante. A ocorrência e a distribuição das espécies têm sido explicadas principalmente como resultados de processos ecológicos contemporâneos, como existência ou não de hospedeiro, temperatura e fatores do solo que atuam sobre a comunidade vegetal ou fúngica.

10.3.3. Germinação dos esporos e biotrofismo obrigatório

Os FMAs são biotróficos obrigatórios e, portanto, só se propagam quando associados a uma planta viva. Isso, além de demandar mão-de-obra e tempo para multiplicação, dificulta obter material puro livre de propágulos de outros FMAs, de fitopatógenos e microrganismos de solo e de raízes que se proliferam abundantemente em substratos esterilizados. Para multiplicação *in vivo* basta inocular uma planta hospedeira em substrato isento de propágulos de FMAs e aguardar por 3 a 4 meses a ocorrência de esporulação. Se as condições nutricionais e ambientais forem adequadas, a esporulação é abundante para a maioria das espécies. Ao mesmo tempo em que se deve procurar aprimorar as técnicas de propagação *in vivo*, a cultura axênica (*in vitro*) precisa ser conseguida, pois é objeto de interesses científicos e comerciais por parte de instituições de pesquisa e empresas comerciais do mundo inteiro. O sucesso do cultivo *in vitro* desses fungos representaria um grande avanço para o desenvolvimento da micorrizologia, pois:

- a) facilitaria a caracterização morfológica adicional e a utilização de características bioquímicas para uso taxonômico;
- b) permitiria a padronização e pureza do inóculo usado na pesquisa;
- c) auxiliaria a realização de estudos avançados sobre a biologia básica e técnicas visando à constituição e à manipulação genética (clonagem);
- d) facultaria a eliminação de hiperparasitas e microrganismos contaminantes que afetam os estudos "in vitro" e as respostas das plantas à inoculação;
- e) permitiria o desenvolvimento de tecnologia para produção de inoculante em larga escala.

Os esporos são unidades biológicas em estado de quiescência que precisam ser ativados para desencadear os processos normais da biologia celular e as funções metabólicas que sustentam sua germinação e crescimento subsequente da fase filamentosa. Não se conhece o mecanismo exato pelo qual esses esporos são ativados a germinar, mas sabe-se que sua simples extração do solo por via úmida é suficiente para desencadear a germinação. Siqueira (1983) propôs que a ativação de proteases inativas na membrana é o mecanismo desse processo. Segundo tal teoria, o esporo, ao absorver água e/ou nutrientes durante a extração, que é via úmida, aumentaria até 40% seu volume. Isso provoca modificações nas condições biofísicas das membranas, onde enzimas proteolíticas armazenadas durante a esporulação e inativas no esporo quiescente, são ativadas. Dessa atividade, ocorre a hidrólise das proteínas de reserva e aumenta a quantidade de aminoácidos livres no citoplasma para a síntese de novas proteínas com funções enzimáticas específicas, desencadeando os processos bioquímicos que sustentam a germinação cuja seqüência de eventos se acha

ilustrada na **figura 10.6**. Assim como os mecanismos descritos para a formação dos esporos, a emergência do tubo germinativo é também diferente para os gêneros e até mesmo para as espécies. A germinação de esporos do tipo azigosporos pode ser simples ou múltipla, isto é, produzir um ou vários tubos germinativos, os quais emergem diretamente da parede laminada do esporo (**Figura 10.7**), através de mecanismos enzimáticos e mecânicos bem balanceados. No caso da *Gigaspora margarita*, uma espécie azigospórica, os principais eventos que precedem a emergência do tubo germinativo (item 3 da Figura 10.7) são: ativação e redistribuição da massa citoplasmática do esporo, divisão nuclear, formação das placas de germinação e engrossamento da parede mais interna do esporo nas proximidades da hifa de sustentação, onde surgem os primórdios do tubo germinativo, os quais emergem através da parede do esporo.

Os eventos bioquímicos da germinação têm sido estudados através do uso de inibidores metabólicos específicos. A atividade metabólica do esporo inicia-se logo após a embebição e prossegue até a paralisação do crescimento micelial quando as reservas do esporo se esgotam. Quando esporos quiescentes entram em germinação, ocorre a síntese de ácidos nucléicos e proteínas essenciais aos processos metabólicos que sustentam a formação, a emergência e o crescimento do tubo germinativo. O tubo germinativo emergente cresce, podendo atingir vários centímetros; é constituído de citoplasma granular com intensa movimentação citoplasmática bidirecional, mais intensa no sentido esporo ápice da hifa. Verifica-se, ainda, muita ramificação e formação de grupamentos de células auxiliares espinhadas e formações do tipo rizóide, que parecem ser respostas do micélio a algum estímulo. Após certo período de crescimento, começa a formar septos na hifa a partir do ápice, o citoplasma recua e o esporo entra em dormência novamente (Figura 10.7), evidenciando sua necessidade obrigatória à células vivas do hospedeiro, biotrofismo obrigatório. Na ponta de hifas assimbióticas, observa-se, com frequência, extrusão citoplasmática que parece resultar de desbalanços nutricionais e/ou fisiológicos: hifas com extrusão citoplasmática assemelham-se às hifas modificadas para geração de esporos (hifas esporógenas) em micélio associado às raízes.

0	Embebição e aumento de volume
15 min	Inicia síntese de RNA e proteínas
35 min	Síntese de proteínas, carboidratos neutros
45 min	Aminoácidos, ATP, ácidos orgânicos
5 h	Síntese de lipídeos
13 h	Síntese de polissacarídeos
29 h	Síntese de DNA não detectada
3-4 dias	Primórdios do tubo germinativo
5-7 dias	Emergência do tubo germinativo
7-20 dias	Crescimento e ramificação
20-30 dias	Paralisação do crescimento e nova quiescência

Figura 10.6. Principais eventos bioquímicos e fenotípicos da germinação dos esporos e crescimento micelial dos fungos MAs *in vitro*. (Siqueira, 1987.)

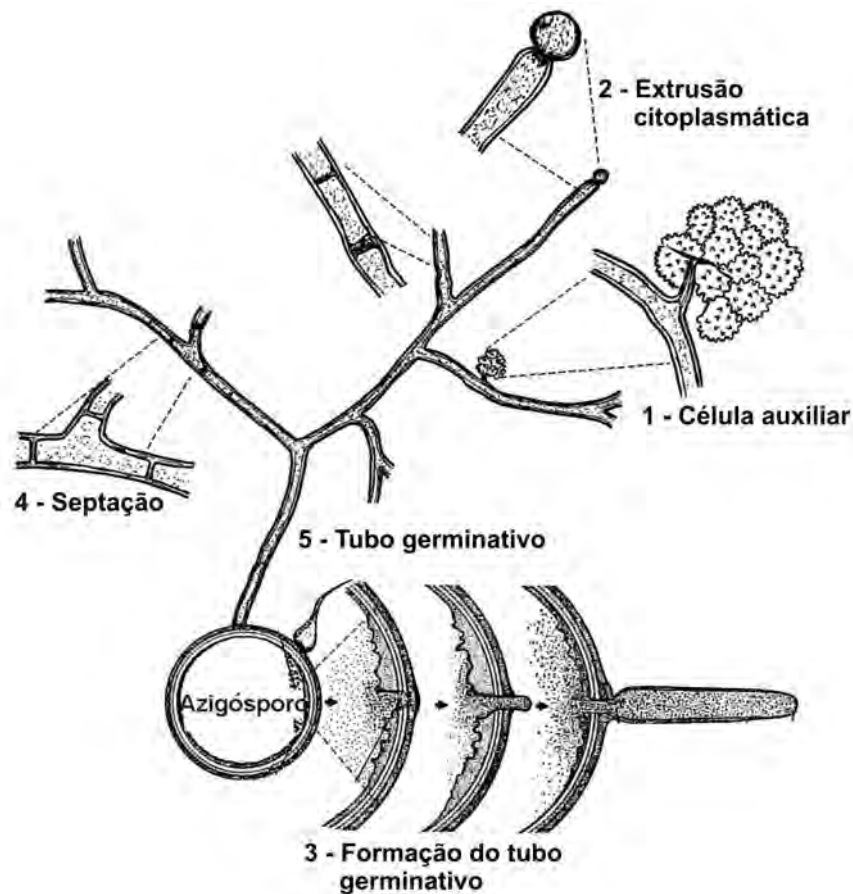


Figura 10.7. Análise ultra-estrutural da formação do tubo germinativo, germinação e crescimento micelial de zigósporo de fungos MAs (Siqueira, 1983).

Nas espécies com esporos do tipo clamidosporo, como de *Glomus*, os esporos germinam pelo recrescimento da hifa de sustentação, produzindo um micélio fino, geralmente hialino, bem ramificado e com inúmeros pequenos “esporos vegetativos” que têm grande semelhança com clamidosporos em desenvolvimento em micélio associado a raízes vivas. Os pequenos esporos geralmente continuam a crescer, produzindo um pequeno tubo germinativo em posição oposta à sua base, mas morrem quando são destacados do esporo de origem. O micélio assimbiótico quando destacado do esporo, é capaz de permanecer viável por algum tempo e até mesmo exibir crescimento, dependendo da composição do meio, mas nunca pode experimentar crescimento continuado, na ausência de células vivas de hospedeiro.

Para germinar, os esporos usam suas próprias reservas, que são mobilizadas pelo metabolismo catabólico. Contêm de 40 a 70% de triglicerídeos, portanto, grande reserva energética que sustenta o

crescimento inicial em vida livre. Esgotadas as reservas endógenas para continuar o crescimento, os esporos teriam que mudar para um metabolismo assimilatório, utilizando fatores absorvidos do meio, capacidade muito limitada nesses fungos. Há indicações de que, durante a evolução, esses fungos perderam a capacitação genética para o saprofitismo ou tiveram parte de seu genoma reprimido, deficiências que podem ser corrigidas por fatores nutricionais ou “indutores gênicos”, originados da planta. As diferenciações fenotípicas do micélio simbiótico intra-radicular, como a formação de arbúsculos, não ocorrem em condições axênicas na ausência de células hospedeiras. Como essa pode ser a única estrutura com permeabilidade suficiente para absorver nutrientes do meio e ter capacidade metabólica para assimilar tais substratos e fatores nutricionais requeridos pelo fungo, essa pode ser uma das razões pelas quais tais fungos não crescem sem raízes vivas, de onde obtêm todos os fatores requeridos para o crescimento e a esporulação.

Tentativas de isolar esses fungos em cultura pura datam do início do século passado e certamente são muito mais numerosas do que relatado na literatura, pois inúmeros resultados negativos nunca foram publicados. Das tentativas iniciais, obtiveram-se culturas puras de organismos habitantes de raízes como espécies de *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Pythium*, além de outros fungos que levaram pesquisadores da época a proclamar erroneamente o sucesso do isolamento dos FMAs. Os resultados publicados sobre o cultivo *in vitro* são inconsistentes e, muitas vezes, os efeitos de diferentes fatores são contraditórios em vista de grande diversidade nos métodos, fungos e condições empregadas. Nos estudos iniciais, utilizavam-se segmentos de raízes colonizadas como propágulos, pois a germinação de esporos não era conseguida devido ao emprego de meios ricos, inibitórios à germinação. Atualmente, empregam-se como propágulos esporos desinfestados com Cloramina-T e hipoclorito de sódio com ou sem suplementação com antibióticos. Os esporos germinam facilmente em meio agarizado ou em líquidos pobres em nutrientes, podendo tanto a germinação quanto o crescimento micelial ser favorecidos por diversos fatores, como discutido em Siqueira et al. (1985). Os fatores que influenciam a velocidade e a taxa final de germinação e que têm sido mais estudados são: pH, temperatura, umidade, luz, concentração de oxigênio e CO₂, elementos minerais, fatores e co-fatores nutricionais, presença de microrganismos, tempo e condições de armazenagem dos propágulos, presença de auto-inibidores, e de substâncias voláteis, antibióticos, inibidores metabólicos e estresses físicos. As condições ótimas de pH e temperatura dependem da espécie ou do isolado em estudo. O pH ótimo para germinação e crescimento *in vitro* depende, também, da composição do meio, mas, em geral, situa-se entre 6,0 e 7,0 para a maioria das espécies. Algumas, como a *Acaulospora laevis*, só germinam em condições de elevada acidez (pH <5,5), ao contrário de *Glomus mosseae*, que só forma tubo germinativo em pH superior a 5,0.

A maioria dos estudos de crescimento *in vitro* foi desenvolvida com poucos isolados, como *Glomus caledonicum*, *Glomus mosseae* e *Gigaspora margarita*, que se beneficiam de fatores nutricionais como vários sais orgânicos, ácido D-galacturônico, sacarose, fosfato de inositol, glicerol, diversos aminoácidos, peptona, conteúdo de esporos, extrato ou dialisado de solo e sementes, tiamina, biotina e sulfito de potássio, desde que em concentrações apropriadas, geralmente muito baixas. Esses estudos indicam que, ao contrário do que ocorre com outros biotróficos obrigatórios, os esporos dos FMAs não exibem o fenômeno da auto-inibição e não requerem fatores nutricionais especí-

ficos para germinação, pois esporos quiescentes da maioria das espécies podem germinar e iniciar o crescimento micelial mesmo em água pura.

Os esporos contêm os fatores biológicos requeridos para a germinação, mas não para o crescimento contínuo, a menos que se associem a células vivas do hospedeiro, por isso tem sido grande o interesse no desenvolvimento de sistemas de cultura axênica de FMAs e células vegetais e raízes. Sua finalidade é obter conhecimentos sobre os requerimentos específicos desses fungos e desenvolver técnicas que facilitem sua multiplicação controlada. Os estudos com suspensão de células vegetais micropropagadas mostraram que a adição de células de planta hospedeira aos esporos aumenta a germinação e estimula a ramificação e o crescimento micelial (**Figura 10.8**). A presença de células vegetais no meio estimula o crescimento micelial, porém não garante o crescimento sustentado das hifas e a diferenciação. Isso ocorre devido à presença de substâncias estimulantes aos fungos, entre as quais já foram identificadas os isoflavonóides (Nair et al., 1991). Esses são metabólicos secundários produzidos e exsudados pelas células vegetais especialmente quando estão sujeitas a algum tipo de

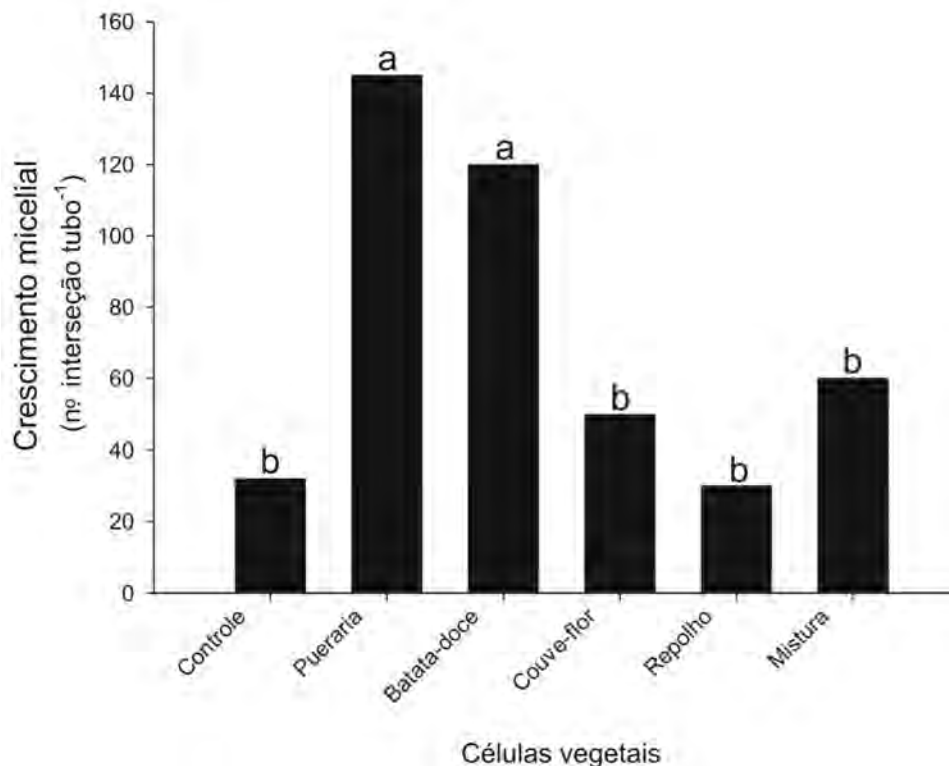


Figura 10.8. Crescimento assimbiótico de esporos de *G. margarita* em meio de cultura sem células vegetais ou suplementado com células de espécies hospedeiras (puerária e batata-doce) e não hospedeiras (repolho e couve-flor) e mistura de células. (Paula & Siqueira, 1990.)

estresse. Vários destes compostos têm sido estudados quanto à atividade sobre os FMAs *in vitro* (Baptista & Siqueira, 1994) e *in vivo* sobre a colonização micorrízica. Os flavonóides atuam de modo muito diferenciado, sendo o isoflavonóide formononetina o que tem efeito mais consistente na colonização, como será discutido mais adiante.

As culturas de fungos com segmentos de raízes de plântulas crescidas axenicamente ou transformadas geneticamente por *Agrobacterium* como no caso das *hairy roots* ou obtidas de calos, têm sido conseguidas em meios agarizados ou em outros substratos complementados com nutrientes de cultura de tecidos vegetais. Essas culturas são iniciadas com esporos desinfestados e pré-germinados em ágar-água devido à sensibilidade dos esporos aos meios de cultura ricos em nutrientes inibidores da germinação. O estabelecimento da associação fungo-raízes é facilmente conseguido nesse sistema, mas a esporulação, quando ocorre, não é abundante. Culturas com plantas em meio sólido (ágar ou areia) e sistemas hidropônicos são obtidas com sucesso, desde que a condição nutricional do meio de crescimento seja ajustada. Em condições de elevada nutrição, a colonização é inibida.

Em síntese, se sabe ainda pouco sobre os processos biológicos fundamentais dos FMAs e as razões para o biotrofismo obrigatório, mas as informações disponíveis indicam que:

- a) os esporos são unidades biológicas que possuem toda informação genética e capacidade para germinar e iniciar crescimento mesmo na ausência da planta hospedeira, mas são incapazes de garantir o crescimento sustentado e a esporulação do fungo em vida livre;
- b) não existe nenhuma evidência da existência de auto-inibição nos esporos como verificado em outros biotróficos obrigatórios;
- c) a obrigatoriedade ao hospedeiro se manifesta em fase pós-germinação dos esporos;
- d) plantas hospedeiras produzem substâncias ativas sobre os propágulos desses fungos;
- e) cultivo *in vitro* em larga escala, na ausência de células vivas do hospedeiro, ainda desafia a ciência moderna.

10.3.4. Estabelecimento da simbiose

O estabelecimento das MAs resulta de uma seqüência de eventos coordenados pelo fungo e pela planta e suas interações, culminando com uma relação simbiótica caracterizada pela perfeita integração morfológica, bioquímica e funcional da associação (**Figura 10.9**). A regulação do micotrofismo determina a resposta da planta hospedeira e o biotrofismo controla o grau de colonização e de produção de propágulos, garantindo a sobrevivência e a evolução desse grupo de fungos. Durante o estabelecimento da associação, ocorre intensa diferenciação celular coordenada pelos parceiros, formando uma interface especializada na qual se dá um fluxo bidirecional de transferência de materiais. Essa relação é obrigatória para o fungo, enquanto para seus hospedeiros é facultativa, embora haja indicações de micotrofismo obrigatório por algumas espécies vegetais, isto é, existem plantas que não conseguem crescer sem esses fungos.

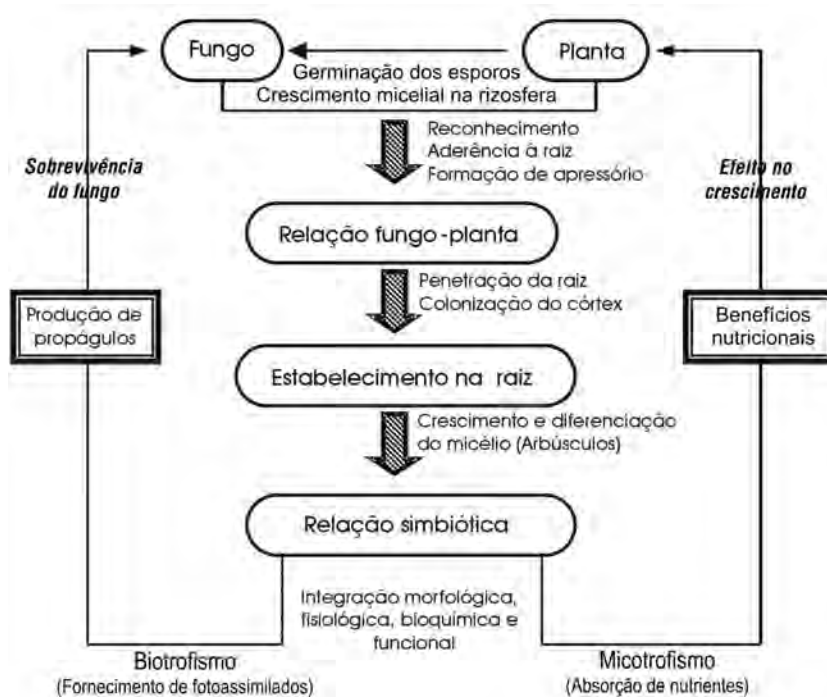


Figura 10.9. Sequência de eventos na formação e no funcionamento da simbiose. (Siqueira, 1994b.)

A colonização tem início com o crescimento de uma hifa infectiva, a partir de um esporo germinado, segmento de raiz infectado ou de hifas no solo, as quais são as formas de propágulos dos FMAs. As hifas infectivas crescem na rizosfera e, ao entrar em contato com as raízes, formam uma estrutura especial de penetração do tipo apressório. Na superfície da raiz após o reconhecimento celular, ocorre o processo de infecção propriamente dito por meio da diferenciação da hifa em apressório e posterior penetração. Isso ocorre por uma combinação de pressão mecânica e degradação enzimática parcial da parede celular vegetal por pectinases, celulases e hemicelulases produzidas pelo fungo. De fato, poligalacturonases têm sido localizadas no citoplasma do fungo e na interface ao redor de hifas intracelulares, indicando sua participação na degradação da parede celular vegetal. No entanto, comparadas aos fungos patogênicos, as quantidades de enzimas degradadoras da parede celular vegetal produzidas pelos FMAs são muito pequenas. O baixo nível de atividade enzimática e a produção localizada dessas enzimas resguardam a integridade do tecido hospedeiro e minimizam a ativação do sistema de defesa vegetal, possibilitando o desenvolvimento do fungo nos tecidos da planta.

Após a penetração das raízes, o fungo forma enovelamentos simples (hifas transcelulares) e coloniza o apoplasto e as células do córtex, formando os arbúsculos para ter acesso ao suprimento de carbono da planta. A colonização apoplástica dá-se pelo crescimento das hifas tanto inter quanto intracelularmente, sendo a última resultante da invaginação da membrana plasmática vegetal e síntese de uma interface

fungo-planta bem característica (**Figura 10.10**) denominada matriz. Na parte mais interna do córtex, hifas intracelulares se diferenciam em arbúsculos através da contínua ramificação dicotômica de suas extremidades (Figura 10.1 B). Tanto as células vegetais quanto as hifas fúngicas passam por profundas alterações morfológicas e fisiológicas durante o desenvolvimento dos arbúsculos, definindo a funcionalidade da simbiose. Os arbúsculos são estruturas efêmeras, de ciclo curto (quatro a cinco dias). Em associações com espécies da Glomeraceae, as hifas intra-radulares se diferenciam em estruturas globosas, ricas em lipídios, chamadas *vesículas*, que aparentemente possuem função de reserva (Figura 10.1 E e F). Na rizosfera, se dá o micélio extra-radicular, onde é produzida a maioria dos esporos, isoladamente ou em esporocarpos. Em algumas espécies, os esporos são também produzidos no interior das raízes como se dá em *Glomus intraradice*. Os eventos críticos do ciclo do fungo e da simbiose, que vão de aspectos da ecologia do fungo no solo à colonização das raízes, relação trófica e senescência da simbiose, completando os ciclos fenotípico e funcional dos parceiros, encontram-se na **tabela 10.3** e na **figura 10.11**. Os estádios fenotípicos do ciclo da simbiose iniciam-se com a germinação dos esporos e são concluídos com a produção de novos esporos que garantem a sobrevivência do fungo. Verifica-se que para cada estágio ocorrem estímulos, respostas e mecanismos seqüenciados e fases distintas de controle específicos na planta (**Tabela 10.4**).

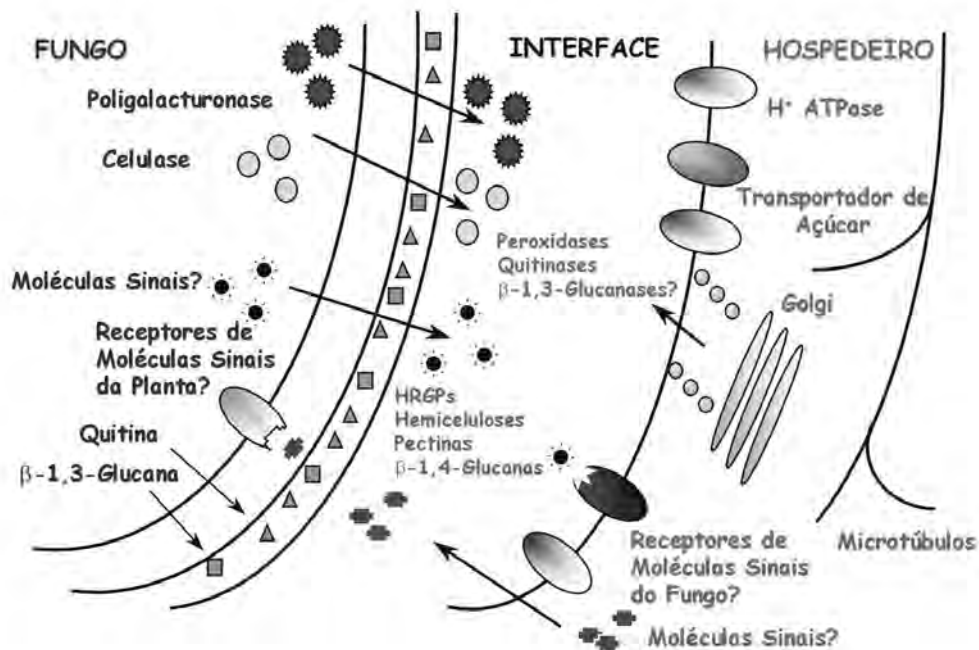


Figura 10.10. Interações bioquímicas no fungo, na planta e no apoplasto entre os simbiontes em micorrizas arbusculares. (Modificado de Bonfante & Perotto, 1995.)

Tabela 10.3. Principais componentes e fases do ciclo dos fungos e das micorrizas arbusculares. (Modificado de Brundrett, 1991).

Componente e fases do ciclo	Relações funcionais
Propágulos fúngicos (esporos, hifas, raízes).	Sobrevivência, dispersão, dormência, ativação e crescimento micelial.
Raízes do hospedeiro.	Suscetibilidade, raízes novas, estado nutricional, taxa de crescimento e exsudação.
Hifa na superfície da raiz.	Proliferação, reconhecimento do hospedeiro, formação de hifas infectivas e apressório.
Penetração da raiz e colonização do córtex.	Compatibilidade com o hospedeiro e alteração morfológica e funcional do fungo e do hospedeiro.
Arbúsculos.	Penetração e ramificação celular e respostas fisiológicas no hospedeiro.
Processos de troca ativa.	Duração limitada e regulada pela interação bioquímica fungo-planta e relação com o ambiente.
Hifa ativa no solo (micélio extra-radicular).	Absorção de nutrientes, exploração do solo, colonização secundária e terciária das raízes.
Senescência das estruturas fúngicas.	Degeneração dos arbúsculos, formação de vesículas e armazenamento de reservas.
Formação de propágulos.	Esporulação, produção de micélio e raízes colonizadas viáveis.
Senescência da raiz.	Perda do córtex (morte e parasitismo), reciclagem dos nutrientes e liberação de propágulos no solo.

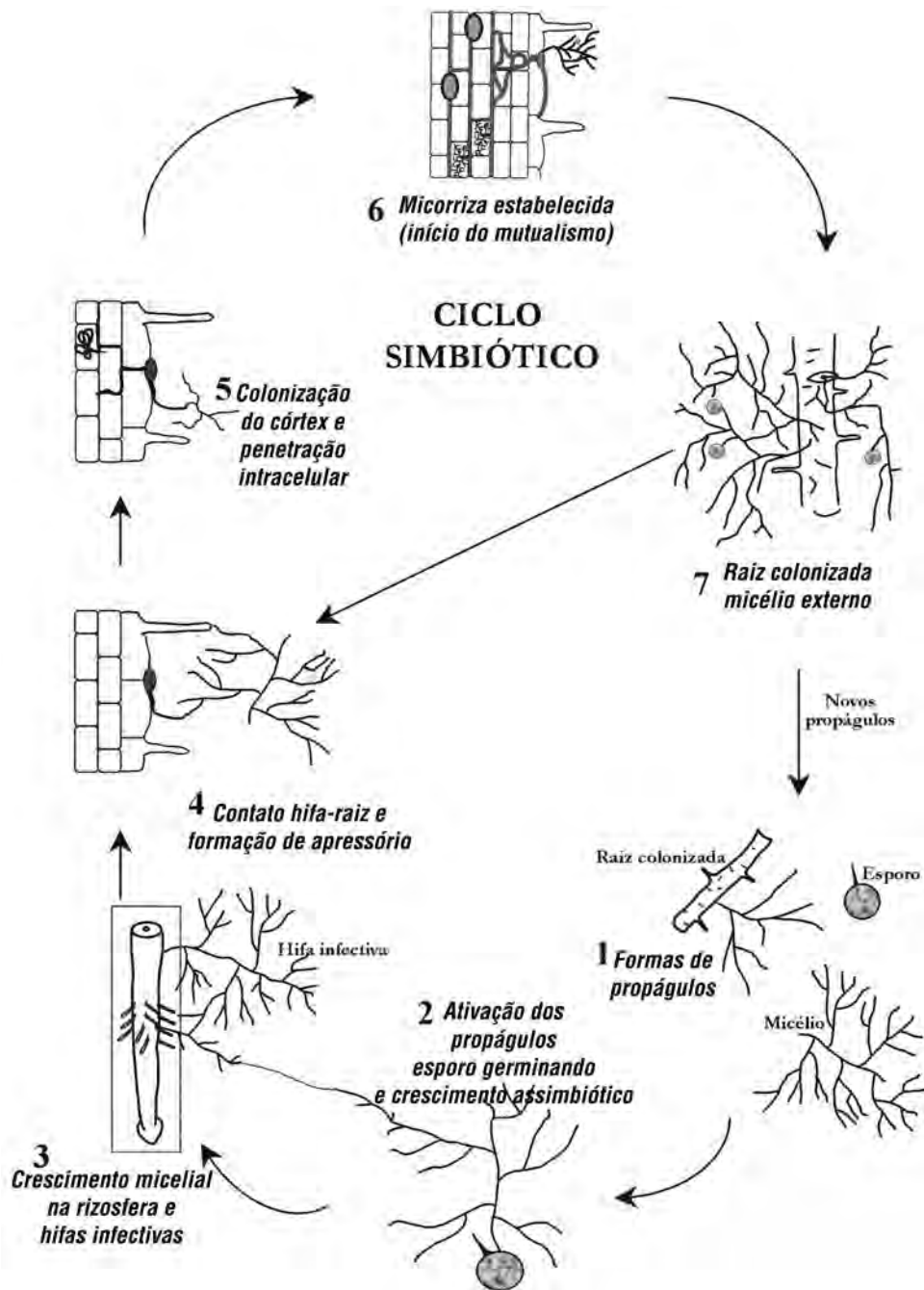


Figura 10.11. Ilustração dos eventos fenotípicos na formação e no ciclo dos fungos MAs (Desenhado por E. Poyú) – ver Tabela 10.4 para melhor explicação sobre os eventos.

Tabela 10.4. Estádios fenotípicos do desenvolvimento das MAs (Smith & Read, 1997).

Fenótipo	Estímulo da planta e respostas
Germinação do esporo.	Pode ser estimulada, porém não há influência específica da planta. Exsudatos têm efeitos inconsistentes e quiescência é regulada pelo fungo.
Crescimento micelial na fase pré-colonização.	É influenciada pela qualidade dos exsudatos e não pela sua quantidade. Presença de substâncias ativas, como flavonóides, e compostos voláteis, como CO ₂ .
Ramificação das hifas e morfogênese.	Plantas hospedeiras estimulam a morfogênese das hifas infectivas, produzindo estruturas ramificadas.
Formação de apressório.	Como no estágio anterior, planta estimula a formação de apressórios (adesão e penetração) que determinam a penetração das raízes.
Penetração do córtex.	Ocorre através de pressão e ação balanceada de enzimas hidrolíticas produzidas pelo fungo e reguladas pela planta.
Enrolamento de hifas no córtex.	Respostas da planta à penetração dependem da combinação planta-fungo.
Hifa intercelular no parênquima cortical.	Ocorre em certos hospedeiros com espaços intercelulares extensivos, mas a influência do hospedeiro não é conhecida.
Arbúsculos e ramificações intracelulares.	Resulta da invaginação do plasmalema e ocorre mudança na posição e atividade dos núcleos para a célula hospedeira. Aumenta a atividade de transcrição das enzimas PAL, IFR e CHS, que regulam a síntese de compostos aromáticos na planta.
ATPase na membrana periarbuscular.	Genes da ATPase são up-regulador e controlam o fluxo de metabólitos e nutrientes entre os parceiros da simbiose.
Produção de micélio externo.	Influência desconhecida do hospedeiro. Parece ser determinada pelo fungo e pelas condições ambientais (solo).
Esporulação.	Sem influência direta do hospedeiro, mas tem relação com o grau de colonização, extensão de raízes e idade (ciclo) da simbiose. Parece ser regulada pelo estado de senescência da planta.

Sinais moleculares e bioquímica da micorrização

A interação entre plantas e microrganismos pode ter início antes mesmo do estabelecimento de um contato físico através da troca de sinais moleculares. Em interação tão complexa e relação tão pouco restrita quanto as MAs, é possível a existência de vários tipos de sinais moleculares e não uma única molécula. Têm sido encontradas, nos exsudatos radiculares de plantas suscetíveis à micorrização, substâncias que estimulam os propágulos dos FMAs. Já aquelas não hospedeiras não exercem estímulos sobre os propágulos (Figura 10.8) e produzem substâncias antifúngicas, como os glicosinolatos nas crucíferas. Antes da colonização, o fungo reconhece e seu hospedeiro lhe responde de modo positivo em potencial, produzindo e diferenciando seu micélio assimbiótico, mesmo sem o contato físico com o hospedeiro. Do mesmo modo o fungo é capaz de produzir sinais difusivos que elicitam expressão específica nas raízes, como o gene regulado MtENOD11, que atua na síntese da parede celular e pode facilitar a penetração do fungo (Kosuta et al., 2003). A formação, portanto, da relação assimbiótica é um processo complexo e regulado por ambos os parceiros.

A exemplo do que acontece nas interações com rizóbio (*Capítulo 9*) e com *Agrobacterium*, compostos fenólicos derivados do hospedeiro parecem estar envolvidos na sinalização entre plantas e FMAs. Isso tem sugerido, portanto, a existência de fatores comuns entre as MAs, leguminosas-rizóbio e outras relações entre fungos e plantas, como evidenciado nos estudos com mutantes de ervilha, os quais demonstraram que aqueles incapazes de nodular, também bloqueiam a colonização micorrízica em um estágio imediatamente posterior à formação do apressório do fungo nas raízes. Esses mutantes são denominados *myc*-precoce. Mutantes que formam nódulos não fixadores (*nod*+*fix*-) também não desenvolvem associação micorrízica típica. No caso desses ocorre a penetração e colonização intercelular, mas não há formação de arbúsculos. Esses são denominados mutantes *myc*-tardios. Adicionalmente, raízes micorrizadas sintetizam proteínas imunologicamente relacionadas com as *nodulinas*, que são proteínas específicas da nodulação, e os fatores *Nod*, produzidos especificamente na interação rizóbio-leguminosas, são capazes de estimular a colonização intra-radicular dos FMAs. Isso sugere que tais simbioses tinham, em comum, pelo menos parte dos mecanismos controladores de seu estabelecimento.

Dois compostos fenólicos capazes de estimular o crescimento de FMAs e a colonização de raízes, identificados como os isoflavonóides formononetina e biocanina A, foram isolados a partir de raízes de trevo cultivadas em condições de deficiência de fosfato (Nair et al., 1991). Também têm sido observados diferenças qualitativas no espectro de flavonóides/isoflavonóides em raízes de *Medicago truncatula* micorrizadas quando comparados com raízes não micorrizadas, sendo detectados alguns compostos fenólicos somente no extrato de raízes não micorrizadas deficientes em fosfato e não naquelas suplementadas com fosfato, independentemente de serem micorrizadas ou não. Adicionalmente, exsudatos de plantas deficientes em fosfato são mais estimulantes para os fungos MAs que aqueles de plantas bem supridas em P, indicando a presença das substâncias estimulantes nas plantas deficientes, que serão mais suscetíveis à micorrização. A síntese de compostos aromáticos bioativos, portanto, sobre os FMAs, é regulada pelo nível de fosfato na planta. Estudos têm revelado que, além da formononetina, outros flavonóides como quercetina, hesperitina, naringenina e

apigenina são capazes de estimular diferencialmente a germinação de esporos, o crescimento do tubo germinativo e a colonização das raízes de plantas hospedeiras (Baptista & Siqueira, 1994; Siqueira et al., 1991a). Os efeitos dos flavonóides na germinação são inconsistentes, variando muito em função de sua estrutura química e da concentração no meio. Aumentos do número de pontos de penetração primária e no grau de colonização, provavelmente em resposta positiva à formação de apressórios, têm sido observados em raízes de várias espécies como soja e milho, após a aplicação de formononetina sintética ao solo (**Tabela 10.5**). O efeito estimulatório desse composto na colonização das raízes tem sido atribuído ao favorecimento de processos em nível celular que facilitam o contato célula-célula como a supressão da atividade total de peroxidases e outras enzimas supressoras do crescimento fúngico nas raízes. Já estudo com mutantes de milho deficientes na síntese de flavonóides mostrou que a colonização das raízes por *Gigaspora margarita*, *Glomus mosseae* ou *Glomus etunicatum* não é afetada pela ausência da síntese desses compostos, sugerindo que eles não são necessários para a colonização. No entanto, há diversas evidências de que o próprio milho tem colonização estimulada pela aplicação exógena de formononetina. O envolvimento de outros compostos, fenólicos ou não, no processo de sinalização e colonização, não pode ser descartado. É possível que certos genes que regulam a formação das MAs poderiam ter sua expressão modulada não somente por um composto fenólico, mas por uma combinação de diferentes compostos, que são produzidos de modo regulado pelo hospedeiro.

Tabela 10.5. Efeitos do isoflavonóide formononetina (F) na micorrização do milho e da soja aos 30 dias de idade (Silva-Júnior & Siqueira, 1987)

Parâmetros	Soja		Milho	
	C	+F	C	+F
Pontos de entrada, #/m de raiz	12,7	23,7 (86%)*	5,8	14,4 (148%)*
Colonização, % segmentos colonizados	31,0	41,0 (32%)	36	49,0 (36%)
Colonização, m hifa/m raiz	0,35	0,57 (63%)	0,23	0,55 (139%)
Arbúsculo, #/m de raiz	394	609 (54%)	132	466 (253%)

* Efeito da formononetina (%) sobre o controle sem a substância (C).

Pelo que se conhece sobre os efeitos dos flavonóides nas MAs, existem fortes indicações de que essas substâncias atuam como sinais moleculares nessa simbiose, o que se explica pelas seguintes razões:

- a) estimulam o crescimento do fungo;
- b) facilitam a interação célula-célula e induzem a diferenciação morfológica como a formação de apressório e pontos de entrada nas raízes;
- c) alteram a expressão gênica durante o desenvolvimento da associação (ex.: mRNA para PAL, CHI e IRF, enzimas envolvidas na síntese dos flavonóides);

d) os fungos MAs respondem também aos flavonóides induzidos por fatores Nod das leguminosas, indicando a possibilidade de mecanismos comuns entre as simbioses rizóbio-leguminosas e micorrizas.

Os opositores à proposição dos flavonóides como sinais moleculares nas MAs têm seus argumentos fundamentados em dois relatos principais. Primeiro: o emprego de substâncias que seqüestram flavonóides (receptores de estrogênio) não bloqueia a micorrização; segundo, a observação de que linhagens de milho deficientes em CHS (enzima da síntese de flavonóides) são identicamente colonizadas àquelas que expressam a CHS. Alguns opositores do envolvimento dos flavonóides nas MAs consideram que eles não são necessários para a micorrização, mas que são apenas estimulantes do crescimento fúngico. Mesmo não conhecendo os mecanismos exatos envolvidos, não há dúvidas de que certos isoflavonóides têm efeitos estimulantes incontestáveis na micorrização.

A primeira e mais importante resposta fenotípica do reconhecimento de um hospedeiro compatível é a diferenciação fúngica em apressório funcional. Essa ocorre após um período de proliferação e ramificação abundante das hifas na rizosfera do hospedeiro e subsequente aderência à superfície da célula radicular, resultando na penetração e colonização do tecido cortical. Esses eventos são controlados pelo genoma da planta hospedeira, considerando que, em raízes de plantas não hospedeiras do gênero *Brassica* e *Lupinus*, fungos MAs não são capazes de formar apressórios funcionais, embora dilatações de hifas semelhantes a apressórios possam ser observadas na superfície das raízes. As plantas não-hospedeiras são desprovidas de algum fator essencial para a completa diferenciação de hifas em apressórios funcionais ou, se existe esse fator, pode estar bloqueado por algum mecanismo como a presença de substâncias antifúngicas. O fator indutor deve interagir com um receptor na membrana plasmática fúngica, desencadeando processos celulares que levam à diferenciação do fungo iniciando o processo de micorrização, que continua com a produção de várias enzimas produzidas pelo fungo e excretadas na interface com o hospedeiro (Figura 10.10). Há, também, uma integração bioquímica e funcional entre os parceiros, formando novo órgão, a micorriza, que é caracterizada por uma interface apoplástica com forte deposição de material semelhante à parede celular ao redor da hifa, chamada matriz. Durante o processo de colonização, alterações bioquímicas são observadas tanto no fungo quanto no hospedeiro, as quais permitem o estabelecimento da relação e o funcionamento simbiótico. Nas hifas, a parede celular é tipicamente fibrilar e contém quitina em forma cristalina, mas, durante a diferenciação das hifas intracelulares em arbúsculos, a parede celular fúngica torna-se amorfa, ocorrendo apenas oligômeros de N-acetilglicosamina. Isso sugere que a polimerização da quitina não é completa e, por isso, esse polímero não ocorre na forma cristalina na parede celular dos arbúsculos. A deposição de material semelhante à parede celular vegetal ao redor dos arbúsculos é reduzida em relação a outras estruturas fúngicas, devido, provavelmente, a uma interferência no processo de deposição. Intensa síntese de membrana plasmática, fragmentação do vacúolo, aumento do volume de citoplasma, decréscimo no número de amiloplastos, movimentação do núcleo, rearranjo do citoesqueleto e aumento da atividade de transcrição são também alterações observáveis durante o desenvolvimento dos arbúsculos (Smith & Gianinazzi-Pearson, 1988). Essas alterações bioquímicas no hospedeiro e outras no fungo, como elevada atividade de ATPase e a atividade de fosfatase alcalina vacuolar que são maiores durante a colonização

do que a atividade delas em hifas provenientes de esporos germinados, são evidências da integração bioquímica e funcional da relação fungo/hospedeiro. As atividades de fosfatases, ATPases e a expressão de proteínas transportadoras de fosfatos e carboidratos, são intensas nas membranas dos arbúsculos.

A expressão diferencial de vários genes envolvidos na defesa vegetal contra o ataque de patógenos, ao nível de proteína e/ou de mRNA, tem sido observada, podendo ter papel fundamental na colonização. Os genes envolvidos na defesa vegetal e modulados durante a formação de MAs, já estudados (resumidos na **Tabela 10.6**), são divididos nos quatro grupos seguintes (Lambais, 1996):

- a) genes envolvidos na via biossintética de fitoalexinas isoflavonóides: fenilalanina amônia-liase (PAL), chalcone-sintase (CHS), chalcone-isomerase (CHI) e isoflavona redutase (IFR);
- b) genes codificando hidrolases com atividades antimicrobiana: quitinase e β -1, 3-glicosidases;
- c) genes codificando proteínas envolvidas no aumento da rigidez da parede celular vegetal: peroxidases e proteínas ricas em hidroxiprolina (HRGPs);
- d) genes codificando proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas): PR-b e PR1.

A via biossintética de isoflavonóides, amplamente conhecidos pela ação de fitoalexinas, envolve uma série de enzimas que podem ser reguladas ao nível de transcrição por estímulos bióticos e abióticos (Siqueira et al., 1991a) e é influenciada pela micorrização. Em interações planta-patógeno incompatíveis,

Tabela 10.6. Principais genes (enzimas) envolvidas no processo de formação das MAs (Lambais, 1996).

Genes/Enzimas	Relação com o controle da micorrização
Síntese de isoflavonóides (PAL, CHS, CHI e IFR).	Em sistema incompatível, ocorre resposta hipersensível, com morte da célula do hospedeiro. Há supressão ou não-ativação desses genes em combinações fungo-planta compatíveis.
Hidrolases antimicrobianas (quitinase e β 1-3 glicosidase).	Essas enzimas podem acumular no ponto de infecção ou sistemicamente, degradando a parede do fungo, dificultando a penetração do hospedeiro.
Proteínas da parede celular (Peroxidases e HGRPs).	Catalisam a polimerização de fenilpropanóides para produzir lignina, aumentando a rigidez da membrana. Os fenilpropanóides podem também estar envolvidos em reações sistêmicas, ocorrendo sua supressão em plantas micorrizadas.
Proteínas relacionadas à patogênese (PR-b, e PR1).	Proteínas de baixo peso molecular acumulam-se em resposta à infecção por patógenos. A indução é mínima ou completamente ausente em raízes micorrizadas.

normalmente ocorre uma resposta hipersensível, isto é, acúmulo localizado de fitoalexinas no sítio de infecção e em suas imediações, com conseqüente morte das células do hospedeiro e do patógeno. Sintomas semelhantes à resposta hipersensível não são observados durante o desenvolvimento de MAs, exceto em algumas plantas não-hospedeiras que apresentam respostas intermediárias. A ausência de resposta hipersensível, após o reconhecimento do FMA, pode refletir uma não-ativação, um baixo nível de resposta de defesa ou supressão do sistema de defesa vegetal. Nos estádios iniciais do desenvolvimento da micorriza em alfafa infectada com *Glomus intraradices*, observaram-se aumentos transientes nas atividades enzimáticas de PAL e CHI e nos níveis de seus respectivos mRNAs nas regiões infectadas da raiz, seguidos de posterior supressão. Tem sido demonstrado que, no início do desenvolvimento da micorriza, o nível de mRNAs codificando PAL e CHS nas raízes é induzido, enquanto o de mRNAs codificando IFR (específica para a síntese de fitoalexinas isoflavonóides) é suprimido, comparado com os níveis desses mRNAs em raízes não micorrizadas.

Em certas interações planta-patógeno, além da resposta hipersensível, hidrolases como quitinases e β 1,3-glucanases podem-se acumular nas proximidades do ponto de infecção e/ou sistemicamente (Figura 10.10). Quitinases e β 1,3-glucanases específicas podem atuar sinergisticamente e degradar a parede celular de vários fungos, podendo contribuir para a contenção do processo de colonização de tecidos vegetais por fungos que contenham quitina em sua parede celular. As quitinases degradam hifas fúngicas (quitina) e isso pode regular a atividade invasora do fungo. O modelo de expressão de quitinases em várias espécies de plantas durante a formação de MAs mostra uma indução transitória da atividade específica, seguida de posterior supressão. No entanto, em algumas situações não há supressão das atividades de quitinases. Também diferentes isoformas de quitinases são diferencialmente reguladas em raízes micorrizadas, sendo as isoformas ácidas mais induzíveis. Diferentes genes de endoquitinase são diferencialmente expressos durante a colonização de raízes de soja por *Glomus intraradices*, sendo a modulação da expressão desses genes dependente da concentração de fosfato. Em plantas transgênicas de *Nicotiana sylvestris* (fumo) com super-expressão de diferentes formas de uma quitinase, observou-se que a colonização por *Glomus mosseae* não foi afetada por essa transformação, embora algumas das linhagens transgênicas apresentassem aumento de resistência à colonização das raízes por *Rhizoctonia solani* (Vierheilig et al., 1993).

Quanto à sinalização da indução localizada de genes de defesa considerados específicos, dois tipos de mecanismos podem estar envolvidos: Endoquitinase ácida PR4 e β 1,3-endoglicanase EG488 e a supressão sistêmica da expressão dos genes codificando essas enzimas e daquelas envolvidas na via biossintética de fenilpropanóides que sintetiza os flavonóides. Na indução localizada, uma molécula sinal, produzida em resposta à penetração do fungo e capaz de elicitar respostas de defesa vegetal, teria sua atividade modulada pelo nível de fosfato que regularia genes diferentes dependendo de sua atividade. No caso da supressão sistêmica, possíveis mediadores dessa resposta seriam fitormônios e moléculas supressoras. De fato, tem sido demonstrado que os níveis de auxinas, citocininas, ácido abscísico e etileno são alterados em raízes micorrizadas, podendo esses modular a expressão de genes de defesa da planta, facilitando a colonização. Sabe-se que os FMAs sintetizam moléculas semelhantes a citocininas e giberelinas que poderiam também afetar a expressão gênica.

O acúmulo de fitoalexinas verificado em fungos patogênicos também ocorre nas MAs, durante a fase simbiótica. Isso pode não estar relacionado com o processo de micorrização, mas pode ter função na relação da planta com outros organismos. Vários compostos aromáticos, incluindo flavonóides (fitoalexinas), são encontrados em maiores concentrações nas células contendo arbúsculos. Esse é um assunto ainda pouco estudado nas micorrizas e pode estar envolvido nos mecanismos de bioproteção em plantas micorrizadas. Estudo recente de Hause et al. (2002) relata níveis de ácido jasmônico e seus derivados em plantas micorrizadas, especialmente em células arbusculadas que também contêm alta expressão dos genes que codificam para enzimas envolvidas na síntese desses compostos. Os jasmonatos, além de ser protetores das plantas ao ataque de patógenos, atuam na regulação do fluxo de carboidratos e, portanto, podem atuar também na regulação da simbiose.

Como mencionado, outro aspecto importante é a expressão de enzimas envolvidas nas relações planta-microrganismos como as peroxidases. Estas catalisam a polimerização oxidativa de fenilpropanóis para produzir lignina e estão envolvidas na ligação cruzada de proteínas da parede celular, contribuindo, assim, para aumentar-lhe a rigidez, dificultando a penetração dos tecidos. Aumentos das atividades de peroxidases têm sido observados em células de hospedeiro tratadas com elicitores e folhas infectadas com fungos patogênicos e em tecidos injuriados, além de serem associadas com o desenvolvimento de resistência sistêmica. O modelo de expressão de peroxidases é semelhante ao de quitinases, envolvendo indução transiente no início do desenvolvimento da MA e posterior supressão de atividade a níveis inferiores aos de plantas não micorrizadas. Essas enzimas são favorecidas por alto suprimento de P e reduzidas pela formonotina, havendo, portanto, evidências no controle da colonização intra-radicular dos FMAs.

Proteínas vegetais que contribuem para o aumento da rigidez da parede celular como as glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (HRGPs) podem também estar envolvidas na micorrização. Essas proteínas e seus respectivos transcritos se acumulam em células vegetais após ataque de patógenos ou tratamento com elicitores. Em raízes micorrizadas, HRGPs são encontradas em abundância nas interfaces entre células vegetais e fúngicas, enquanto em tecidos não infectados são encontrados somente na parede celular, havendo, portanto, uma resposta específica nas raízes micorrizadas. As proteínas relacionadas com a patogênese (PR) são proteínas vegetais de baixa massa molecular, resistentes à ação de proteases e que, geralmente, se acumulam em resposta à colonização microbiana. Muitas PR-proteínas têm sido identificadas como quitinases e β 1,3-glicanases, mas outras ainda não possuem função definida. Em fumo, existem PR-proteínas de função desconhecida como a PR-b que é muito pouco induzida em raízes micorrizadas, em oposição ao que acontece na presença de um patógeno. Em fumo colonizado com *G. mosseae*, sítios antigênicos para essa proteína foram localizados nas interfaces fungo-planta e sintetizadas em células parenquimáticas contendo arbúsculos em resposta à colonização. Desses estudos, pode-se concluir que: a expressão de genes relacionados ao sistema de defesa vegetal é sistemicamente suprimida durante a formação das MAs, enquanto a expressão de outros genes é localizadamente induzida, sendo a modulação dessas respostas dependente de fatores externos, como o nível de fosfato.

Desenvolvimento intra e extra-radicular

Após a penetração da raiz, ocorrem o espalhamento e o desenvolvimento intra-radicular do fungo como foi apresentado formando hifas e estruturas específicas como arbúsculos e vesículas (Figura 10.1 A-C). Há também a formação de hifas enroladas que são menos comuns e se formam predominantemente nas células do exoderma. Embora os arbúsculos se desenvolvam dentro da célula, permanecem essencialmente no apoplasto, considerando-se que a membrana da planta se expande para envolver o crescimento fúngico intracelular. A célula fúngica torna-se fina à medida que o arbúsculo se desenvolve, formando uma interface extensiva através da qual os simbiontes entram em contato íntimo separados apenas por suas membranas e um apoplasto fino de origem da planta denominado matriz (Figura 10.10). Essa interface é considerada o sítio de troca da simbiose, no qual os nutrientes absorvidos do solo, especialmente o fosfato e o carbono fotoassimilado, são transferidos. Os arbúsculos duram poucos dias, desintegrando-se, deixando as células sem qualquer dano para produzir novo arbúsculo. Seguindo a formação desses, algumas espécies de fungos produzem nas raízes as vesículas que são estruturas ricas em lipídios (Figura 10.1 E-F), as quais, presumidamente, servem como órgão de reserva para o fungo, acreditando-se que podem atuar como propágulos no solo. O desenvolvimento intra-radicular é influenciado pela planta, podendo uma única espécie de fungo apresentar tipos distintos de diferenciação morfológica, dependendo da espécie vegetal, como apresentado na **figura 10.12 A e B**. Distinguem-se dois tipos anatômicos característicos das MAs, denominados *Paris* e *Arum* referindo-se a espécies nas quais eles foram primeiramente descritos. O tipo *Paris* é caracterizado por desenvolvimento extensivo do micélio intracelular, geralmente “enrolado” e se espalha de célula a célula dentro do córtex intercalando-se com os hifas arbusculadas (Figura 10.12A). Ocorre com frequência em plantas florestais, sendo o tipo menos estudado e, por isso, pouco conhecido. O tipo *Arum* é o mais comum, sendo encontrado em raízes de crescimento rápido como a maioria das espécies de plantas herbáceas cultivadas, sendo caracterizado pela colonização e espalhamento rápido do córtex via hifa intercelular, que se estende ao longo do apoplasto.

Externamente, as hifas fúngicas desenvolvem-se de modo extensivo no solo, formando uma rede de hifas (micélio) referida como micélio externo, constituído por hifas grandes, cenocíticas e geralmente angulosas (Figura 10.2). Estas acompanham as raízes finas formando em seu conjunto, a camada *micorrizosfera*. O micélio externo faz a conexão entre o solo e o interior da planta (**Figura 10.12 C**) e desempenha função crucial para a simbiose. A quantidade de micélio extra-radicular é variável para a espécie fúngica, mas valores de até 26 m de hifa por grama de solo têm sido encontrados. Ele tem função importante na simbiose, pois atua na absorção de nutrientes e na água do solo, translocando-os para a planta; atua na colonização secundária de raízes e diferencia-se para gerar os esporos, principal forma de propágulos dos FMAs no solo. A absorção de fosfato pelas hifas ocorre contra gradiente de concentração, sendo importante no transporte ativo através da membrana e, para isso, as hifas extra-radulares dos FMAs possuem sistema transportador de fosfato de alta afinidade e grande expressão de ATPases. O fungo apresenta um processo especializado que opera na membrana e garante efluxo suficiente de fosfato na interface arbuscular para a planta, onde as atividades de fosfatases e ATPases na membrana periarbuscular são muito intensas. Oposto ao fluxo de fósforo do fungo para a planta, dá-se a transferência de

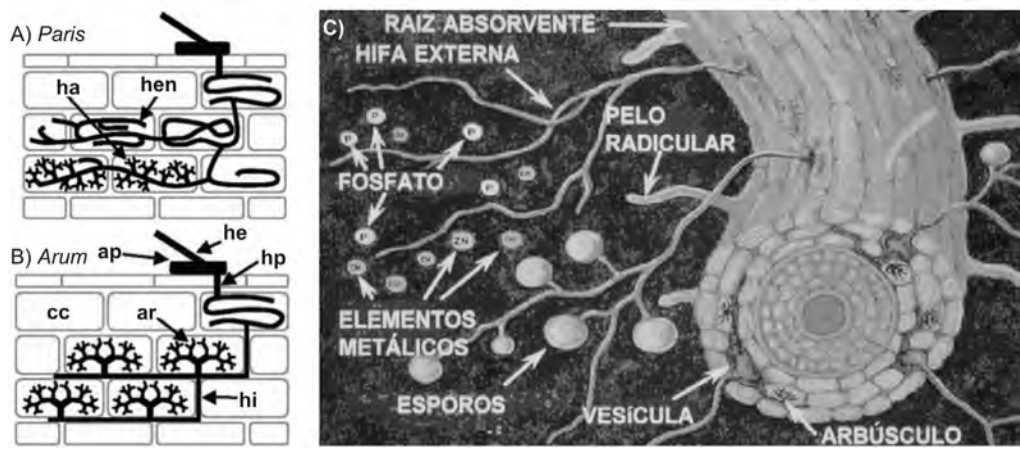


Figura 10.12. Representação dos tipos anatômicos *Paris* (A) e *Arum* (B) e ilustração esquemática da simbiose micorrízica arbuscular e do papel do micélio fúngico na conexão entre o solo e o interior da planta (C). ap—apressório; he—hifa externa; hp—hifa penetrante; ar—arbúsculo; cc—células corticais; hi—hifa intercelular; hen—hifa enrolada; ha—hifa arbusculada.

carboidratos dela para o fungo. A transferência bilateral constitui a essência do processo simbiótico, de modo que a intensidade desses fluxos determina a natureza e o grau de benefício da relação.

10.3.5. Ocorrência das MAs

As micorrizas são simbioses complexas formadas por vários componentes que determinam a taxa de colonização, a incidência de propágulos e os efeitos e funções da simbiose para as plantas e ecossistemas. Os componentes principais desse sistema são o fungo, a planta e o ambiente (solo), os quais apresentam forte inter-relação e interdependência (**Figura 10.13**).

Como já discutido no início deste capítulo, as MAs são de ocorrência generalizada nas plantas superiores, e os fungos que as formam, são predominantes entre aqueles normalmente encontrados na rizosfera ou entre os colonizadores de raízes. Estima-se que a grande maioria das espécies de plantas (cerca de 250.000 espécies), são capazes de formar MAs. Por isso, essa associação tem ocorrência generalizada, sendo mais fácil listar as exceções de plantas que não formam essa associação que são membros das famílias: Brassicaceae, Amarantaceae, Comelinaceae, Juncaceae, Proteaceae, Polygonaceae, Cyperaceae e Chenopodiaceae. Aproximadamente 87% das crucíferas (Brassicaceae), 67% das Chenopodiaceae, 37% das Polygonaceae e 4% das leguminosas não formam MAs. Levantamentos realizados em várias regiões do mundo confirmam que as MAs são bem mais abundantes que as ectomicorrizas. Nos trópicos, as MAs são cerca de dez vezes mais abundantes que as ectomicorrizas. As MAs ocorrem na maioria das Fanerógamas (97%), incluindo quase todas as espécies de interesse agrônomo, pastoril e espécies florestais nativas dos trópicos.

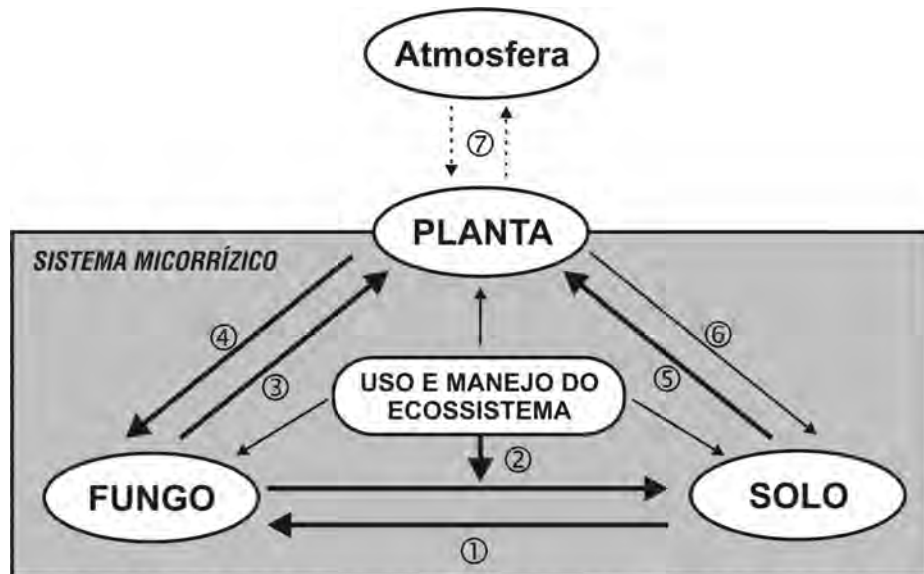


Figura 10.13. Componentes do sistema micorrízico e suas inter-relações. 1: ambiente do solo (pH, nutrientes, metais, temperatura, umidade); 2: agregação, exploração de microssítios; 3: absorção de água, nutrientes e efeitos fisiológicos; 4: exsudatos e fotoassimilados; 5: suporte físico, nutrientes, água e fatores tóxicos; 6: rizodeposição, agregação, proteção e serrapilheira; 7: troca gasosa, precipitação, poluentes e temperatura.

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 (basidiocarpos e ascocarpos), as MAs não são detectadas a olho nu, sendo os fungos que as formam, microscópicos. Além disso, por serem biotróficos obrigatórios, estes não aparecem em isolamentos feitos em meios de cultura normalmente empregados nos isolamentos de fungos do solo. Para verificar a ocorrência e quantificar as MAs, são necessários procedimentos específicos como:

- a) observação e avaliação microscópica das raízes quanto à presença do fungo e estruturas típicas como arbúsculos, vesículas e esporos;
- b) extração, separação e contagem dos esporos do solo, cuja presença é indicativo da ocorrência da associação no ecossistema;
- c) bioensaio para determinação da infectividade do solo e do número mais provável (NMP) de propágulos, indicam o potencial de colonização micorrízica do solo.

As diversas alternativas operacionais para a avaliação da ocorrência das MAs e suas relações ecológicas acham-se resumidas na **figura 10.14**. Amostras de raízes lavadas podem ser observadas diretamente quanto à presença de estruturas fúngicas, usando microscopia de fluorescência, mas is-



Figura 10.14. Seqüência operacional para avaliação da ocorrência e relações ecológicas das MAs. (Siqueira, 1994b.)

so requer muita experiência do observador e tem aplicação muito limitada a certas espécies vegetais que produzem pigmentos fluorescentes quando micorrizadas. O procedimento mais seguro e amplamente empregado consiste na clarificação e alveamento das raízes com produtos químicos e posterior coloração com corantes, como azul-de-tripano e fucsina ácida, os quais permitem a visualização das estruturas microscópicas do fungo nas raízes. Para isso, deve-se selecionar apenas as raízes finas (< 2 mm de diâmetro) e tomar cuidado de distinguir as estruturas dos fungos Glomaleanos de saprófitas ou parasitas que também normalmente se associam às raízes. Os FMAs são asseptados, enquanto os outros, em sua grande maioria, septados, podendo ser distinguidos mesmo com baixa ampliação microscópica. A observação em ampliações maiores das hifas não-septadas e/ou estruturas típicas inter e intracelular no córtex, assim como o micélio externo (extra-radicular), revelam detalhes típicos desse grupo de fungos. Os arbúsculos são estruturas intracelulares típicas desses fungos, enquanto as vesículas só ocorrem em certas espécies de FMAs (item 10.3.2). Alguns fungos, como *Glomus intraradices*, formam esporos dentro das raízes. A distinção entre esporos intra-radulares e vesículas é feita pela espessura e organização das paredes dessas estruturas. As vesículas

têm paredes finas, enquanto os esporos têm paredes espessas e, na maioria, com paredes multilaminadas absorvendo mais intensamente os corantes.

Raízes devidamente preparadas são então submetidas à avaliação microscópica e à determinação da taxa de colonização. Esta pode ser expressa por diversas maneiras, como por exemplo: porcentagem dos segmentos colonizados, porcentagem do comprimento de raiz colonizada, intensidade da colonização e porcentagem de colonização arbuscular. A taxa de colonização varia enormemente em função de fatores da planta, do fungo e das condições ambientais (Figura 10.13).

Outra maneira de avaliar a ocorrência das MAs é o isolamento e a extração dos esporos dos FMAs do solo para contagem e cálculo da densidade de propágulos no solo. Também o número de propágulos ou infectividade do solo pode ser determinado pelo método do número mais provável (NMP). Entre os métodos para determinação da densidade de esporos no solo, o mais eficiente e simples é o peneiramento via úmida, que consiste em fazer uma suspensão do solo em água e o peneiramento através de uma série de peneiras com malhas, variando de 0,35 mm a 0,45 μm de abertura. Os materiais retidos nas peneiras intermediárias e na mais fina são retirados e centrifugados em água e sacarose (1 mol L^{-1}), em centrífugas com rotor horizontal com tubos balançantes. Quando centrifugados com solução de sacarose, os esporos ficam no sobrenadante, sendo lavados com água corrente e transferidos para placas para observações e contagem em microscópio em baixa ampliação. Os esporos são também montados em lâminas contendo fixadores como PVL (álcool polivinil em lactofenol) para caracterização estrutural detalhada (aumento de 100 a 1.000 x) e posterior classificação taxonômica.

A riqueza dos fungos FMAs varia muito, sendo encontradas de duas a 33 espécies por ecossistema. Embora diversos trabalhos já tenham sido desenvolvidos, a riqueza, a diversidade e o potencial simbiótico de populações FMAs nos ecossistemas brasileiros não são ainda suficientemente estudados. Os principais resultados sobre a ocorrência de FMAs realizados no País (resumidos na **Tabela 10.7**) englobam levantamentos em várias culturas e ecossistemas não cultivados. Muitos deles revelam grande riqueza de espécies, muitas delas ainda não identificadas, cerca de 20% das espécies encontradas. As mais frequentes em ecossistemas do Estado de Minas Gerais e respectivos índices de ocorrência são apresentados na **figura 10.15**. O cultivo do solo causa grande modificação na estruturação das comunidades fúngicas, alterando a distribuição e a dominância das espécies. Isso ocorre devido a alterações bióticas e abióticas do ambiente edáfico, como modificação na vegetação (raízes) e nas propriedades químicas do solo, especialmente nos componentes da acidez e na disponibilidade de nutrientes. Enquanto algumas espécies de *Acaulospora* são favorecidas pelo cultivo do cerrado, as de *Scutellospora* e *Gigaspora* têm a presença diminuída pela interferência antrópica nesse ambiente. A ocorrência das espécies de FMAs é muito variável, mas bastante diversa mesmo em solo degradado. De modo geral, identificam-se grupos caracterizados quanto ao padrão de ocorrência como: generalistas, intermediários e raros (**Tabela 10.8**).

Considerando as informações disponíveis bem gerais para as plantas tropicais, Trappe (1987) relata que cerca de 13,4% das espécies são não-micorrízicas, 70,9% formam MAs e 15,7%, outros tipos de simbiose radicular com fungos. De 131 espécies florestais de ocorrência na Região Sudeste estudadas na UFLA, apenas 8% não formam MAs, indicando a ocorrência generalizada desta asso-

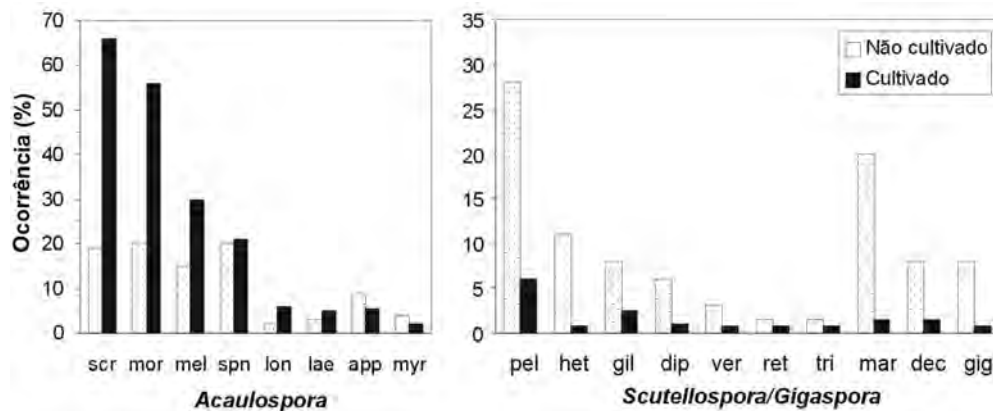
Tabela 10.7. Número de estudos e respectivas espécies (total, identificadas e não identificadas) em diferentes ecossistemas no Brasil (Modificado de Sturmer & Siqueira, 2006).

Ecossistema / Nº estudos	Espécies FMAs		Nº espécie por estudo
	Total	Não identificadas	
Agrícola* / 10	79	16 (20%)**	9-25 (19)***
Cafeeiro / 4	46	12 (28%)	8-32 (22)
Floresta / 5	49	7 (14%)	13-22 (17)
Dunas / 4	37	8 (21%)	12-24 (16)
Degradadas / 2	23	5 (22%)	6-21 (13)

* Culturas anuais.

** Porcentagem do total de espécies encontradas nos ecossistemas, média geral 20%.

*** Número médio de espécie por estudo.

**Figura 10.15.** Ocorrência de espécies de FMAs dos gêneros *Acaulospora* e *Scutellospora/Gigaspora* em solos de cerrado cultivado e sem cultivo em Minas Gerais (Dados de J.O. Siqueira, *apud* Johnson & Pflieger, 1992). scr – *scrobiculata*; mor – *morrowiae*; mel – *mellea*; spn – *spinosa*; lon – *longula*; lae – *laevis*; app – *appendicola*; myr – *myriocarpa*; pel – *S. pellucida*; het – *S. heterogama*; gil – *S. gilmorei*; dip – *S. dipapillosa*; ver – *S. verrucosa*; ret – *S. reticulata*; tri – *S. tricalyptea*; mar – *G. margarita*; dec – *G. decipiens*; gig – *G. gigantea*.

ciação nos fragmentos de matas da região. Como mostrado na **figura 10.16**, a taxa de colonização de várias espécies arbóreas por um único isolado fúngico apresenta grande variação, observando-se o mesmo quando vários isolados estão em uma única espécie de planta. Do ponto de vista da compatibilidade fungo-planta, quanto a colonização, as MAs são consideradas não específicas. Estudos desenvolvidos neste laboratório avaliaram a compatibilidade fungo-planta em 160 diferentes combinações de FMAs com espécies arbóreas nativas. A colonização micorrízica só não ocorreu em 5 das

Tabela 10.8. Categoria de ocorrência de espécies de FMAs revelados pelos estudos realizados em ecossistemas brasileiros (Modificado de Sturmer & Siqueira, 2005).

Categoria	Exemplo de espécies
Generalistas	<i>A. scrobiculata</i> , <i>A. laevis</i> , <i>A. mellea</i> , <i>A. marronia</i> , <i>E. colombiana</i> , <i>Gl. clarum</i> , <i>Gl. etunicatum</i> , <i>Gl. fasciculatum</i> , <i>G. decipiens</i> , <i>G. gigantea</i> , <i>G. margarita</i> , <i>S. hetrogama</i> , <i>S. pellucida</i> , <i>Archaeospora leptoticha</i> e <i>P. occultum</i> .
Intermediárias	<i>A. delicata</i> , <i>A. longula</i> , <i>A. myriocarpa</i> , <i>Gl. aggregatum</i> , <i>Gl. albidum</i> , <i>A. gerdemannii</i> , <i>Gl. coremioides</i> , <i>Gl. diaphanum</i> , <i>Gl. geosporum</i> , <i>Gl. intraradices</i> , <i>Gl. monosporum</i> , <i>Gl. mosseae</i> , <i>Gl. tortuosum</i> , <i>Gl. albida</i> , <i>S. aurigloba</i> e <i>S. dipapillosa</i> .
Raras	<i>A. delicata</i> , <i>A. delatata</i> , <i>Gl. deserticola</i> , <i>Gl. maculosum</i> , <i>Gl. pansihalos</i> , <i>G. tenue</i> , <i>G. rosea</i> , <i>S. cerradensis</i> , <i>S. minuta</i> , <i>S. reticulata</i> , <i>S. scutata</i> e <i>P. brasilianum</i> .

160 combinações avaliadas, evidenciando a irrestrita capacidade desses fungos em colonizar as espécies nativas, mas fica evidente certa discriminação entre os parceiros, geralmente observado também para os efeitos de um mesmo fungo no crescimento das diferentes espécies de plantas (Figura 10.16a). Portanto, o estabelecimento e o funcionamento da simbiose resultam de aspectos específicos desses parceiros, havendo casos de elevada taxa de colonização como na aroeirinha, e nenhum benefício para o crescimento, porque a resposta à colonização depende de outros fatores como abordados no item 10.3.7.

Os propágulos desses fungos se acham presentes em quase todos os solos e a ocorrência, assim como o grau de colonização das raízes, são determinados pelo tipo de vegetação e pelo ambiente. Os FMAs têm ocorrência reduzida ou são ausentes em solos: fumigados, severamente perturbados pela erosão, solos de mineração, áreas de construção civil, solos sob longos períodos de pousio ou sob inundações e naqueles cultivados por longo período com espécies não hospedeiras e com altas concentrações de poluentes ambientais.

10.3.6. Fatores ambientais que afetam as MAs

Como as micorrizas são sistemas biológicos compartimentalizados (Figura 10.13), sofrem enorme influência do ambiente e de inúmeros fatores edáficos de cada componente que influenciam de modo direto ou indireto a formação, o funcionamento e a ocorrência das MAs (**Tabela 10.9**). Os componentes e os fatores controladores apresentam interação constante e intensa de modo que a alteração em qualquer deles exercerá influência sobre as micorrizas e os propágulos dos FMAs. A literatura sobre esses efeitos e sua importância para as MAs é bastante abundante, sendo alguns dos aspectos abordados neste item.

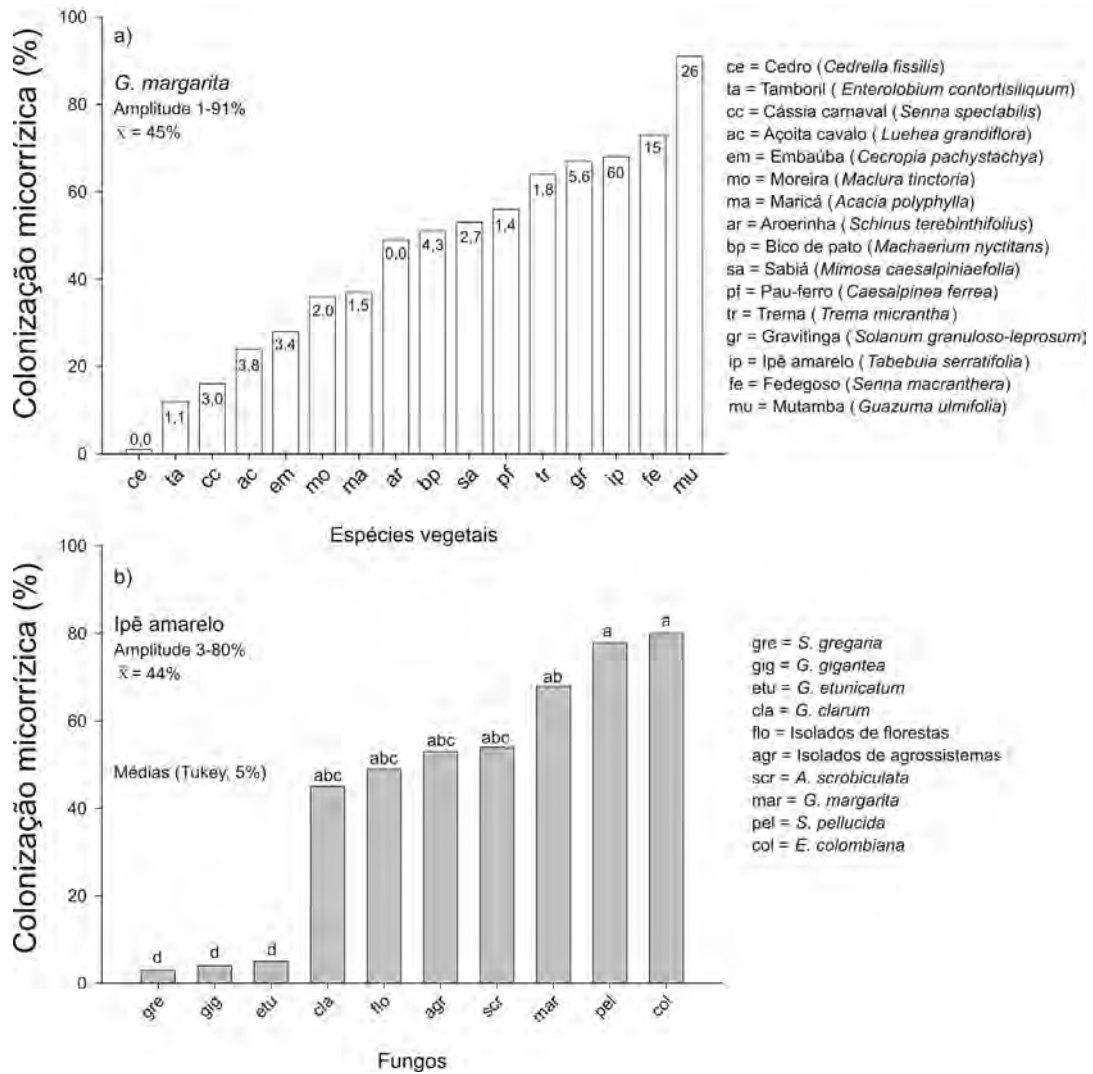


Figura 10.16. Suscetibilidade à colonização micorrizica de espécies arbóreas pela *Gigaspora margarita* e respectivos efeitos no crescimento das plantas (a) e efeito de diferentes isolados fúngicos na colonização do ipê amarelo (b). (Rojas, 2002.) Os números nas colunas da figura (a) representam a razão matéria seca planta inoculada/não inoculada.

Tabela 10.9. Fatores que influenciam a formação e a ocorrência das MAs.

Componente	Principais fatores
Solo	Disponibilidade de nutrientes, pH, elementos tóxicos, salinidade, textura, estrutura e agregação, densidade, umidade e organismos.
Planta	Espécies, variedade, cobertura vegetal, estado nutricional, idade, ciclo e taxa de crescimento, alelopatia, sistema radicular, exsudação e senescência.
Ambiente	Intensidade luminosa, temperatura, sazonalidade, precipitação, poluição atmosférica e do solo e estresses diversos.
Manejo	Histórico da área, tipo de cultivo, erosão, irrigação, fertilizantes e corretivos, controle de ervas daninhas, pastejo e uso de biocidas e mudança na vegetação.

Disponibilidade de nutrientes no solo

As MAs são geralmente inibidas em condições de elevada fertilidade e favorecidas pela baixa fertilidade, onde a colonização e a esporulação são geralmente máximas. A adição de P suficiente para otimizar o crescimento da planta geralmente, reduz a colonização (**Figura 10.17**). Como visto nessa figura, enquanto para o milho, a colonização se reduz com a primeira dose de P, para a soja houve resposta positiva à aplicação de pequena quantidade do nutriente em solo de cerrado deficiente no mesmo. Isso porque P atua via nutrição da planta e a quantidade de nutrientes requerida para inibir a colonização depende da capacidade de absorção, translocação e exigência interna da planta hospedeira. Em solo muito deficiente em P, a aplicação de pequena quantidade do elemento favorece a colonização e a esporulação, que podem ser inibidas com doses elevadas nutriente. Para o sorgo em solo de cerrado, a colonização aumenta até a adição de doses superiores a 50 μg de P g^{-1} de solo, decrescendo em doses acima desse. Esse é o modelo de resposta observado para a maioria das plantas nas condições de solos tropicais. Para mudas de cafeeiro, a inibição da colonização inicia em substrato acima de 50 mg de P kg^{-1} de solo (Mehlich-1), sendo esse efeito muito acentuado acima de 100 mg de P kg^{-1} de solo.

É muito conhecido o efeito de P na colonização e sabe-se que ele não torna as plantas imunes à colonização, mas apenas reduz a intensidade da micorrização. Geralmente, em concentrações próximas do ótimo para o crescimento da planta hospedeira, já ocorre inibição da colonização micorrízica. Nessas concentrações de P, não há efeito inibitório (fungistático) sobre os propágulos do fungo na rizosfera, a colonização é reduzida por mecanismos de auto-regulação da simbiose. Como já mencionado, os exsudatos de plantas deficientes em P estimulam o crescimento assimbiótico do fungo e, assim, em condições de suprimento ótimo de P, a colonização não será estimulada. Quando é aumentada a disponibilidade do P no solo, sua absorção pela planta e sua concentração na parte aérea, onde ele atua nos processos fisiológicos e/ou metabólicos relacionados à

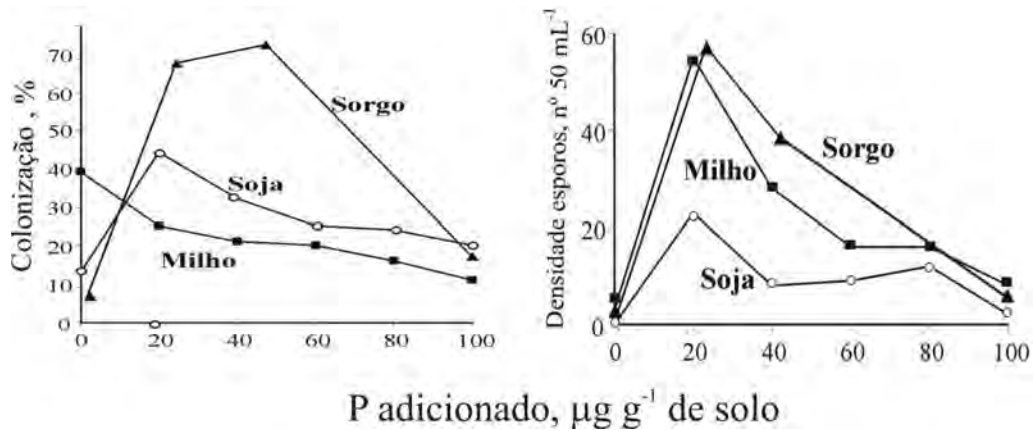


Figura 10.17. Efeito de nutrientes na colonização e esporulação de fungos MAs (Dados de Miranda et al., 1984). A densidade de esporos no sorgo deve ser multiplicada por 10.

fotossíntese, crescimento, partição e distribuição de fotoassimilados na planta e, possivelmente, nos sinais moleculares, atuando, assim, na simbiose de modo “auto-regulado”. Esses mecanismos são complexos e podem diferir para os tipos de micorrizas e até combinações fungo-planta do mesmo tipo, dificultando as generalizações sobre os mecanismos. Os efeitos negativos de alta disponibilidade de P são muito consistentes, representando quase uma regra na ecologia da micorriza, mas o mecanismo exato dessa inibição é ainda assunto não resolvido, existindo várias hipóteses para explicar esse fenômeno:

a) a primeira considera que as plantas contêm, nas raízes, lectinas que se ligam aos carboidratos nas paredes do fungo, inibindo seu crescimento. Postula-se que, em condições de deficiência de P, as plantas exibem elevada atividade de fosfatases nas raízes, as quais formam dímeros com as lectinas, inativando-as e permitindo o crescimento do fungo no córtex. Em condições de altas concentrações de P, as plantas exibiriam baixa atividade de fosfatase, deixando as lectinas livres para bloquear a penetração do fungo e, conseqüentemente, reduzindo a micorrização;

b) a segunda hipótese baseia-se na permeabilidade da membrana das células radiculares do hospedeiro, a qual é influenciada pela disponibilidade de P. Em condições de alto suprimento de P, a biossíntese de fosfolipídeos é favorecida e, por serem integrantes das paredes das membranas, quanto maior a absorção de P, menor a permeabilidade delas. Como conseqüência, tem-se menor quantidade de exsudatos (açúcares e aminoácidos) na rizosfera, o que resulta na baixa germinação, crescimento micelial e, conseqüentemente, reduzindo a colonização. Embora essa proposição tenha sido amplamente aceita, o mecanismo é muito questionado pelo fato de que outros fatores que interferem na permeabilidade das membranas (ex.: cálcio, água) não têm o mesmo efeito sobre a colonização.

Recentemente, a identificação dos flavonóides como fatores ativos dos exsudatos sobre os fungos MAs, indica que a qualidade dos exsudatos é mais importante que sua quantidade para a micorrização, ao contrário do que foi preconizado nessa hipótese;

c) com base no efeito inibitório de concentrações elevadas de açúcares sobre os propágulos do fungo *in vitro* e dos efeitos do P no metabolismo de carboidratos da planta, Siqueira (1983) formulou a terceira hipótese para o controle de P na micorrização baseando-se no seguinte mecanismo: com maior disponibilidade de P no solo, tem-se maior fotossíntese e exportação de triose-fosfato do cloroplasto para o citoplasma da folha, onde a sacarose é sintetizada e, posteriormente, translocada, via floema, até as raízes. A sacarose e/ou seus derivados, quando presentes em baixas concentrações, beneficia o crescimento do fungo conforme revelaram estudos *in vitro*, mas quando em concentrações elevadas (acima de 4 g L⁻¹), torna-se inibitória para o mesmo. Admitindo-se efeitos semelhantes *in vivo*, esse mecanismo atua na regulação da taxa de colonização das plantas;

d) estudos mais recentes sugerem que P pode controlar a colonização, atuando indiretamente em mecanismos bioquímicos, modulando a supressão ou a indução gênica do processo de micorrização, conforme abordado no item 10.3.4.

Conclusivamente, não se sabe, de fato, como a alta disponibilidade de P regula a micorrização das plantas, mas deve-se também considerar que esse efeito, embora mais evidente para P, não é exclusivo para esse nutriente. N e demais nutrientes podem inibir a micorrização, quando em excesso no solo.

Ao contrário do que ocorre geralmente com os macronutrientes, alguns micronutrientes como Zn, Cu, Mn e Fe, atuam diretamente sobre os propágulos dos FMAs, os quais apresentam, geralmente, elevada sensibilidade a esses elementos, interferindo, assim, na micorrização. Concentrações de certos elementos, até mesmo inferior àquelas encontradas na solução do solo, podem inibir a germinação dos esporos e, por conseqüência, a micorrização. Os efeitos fungistáticos da maioria dos metais são reversíveis e muito diferenciados sobre os fungos MAs. Como a disponibilidade desses metais sofre grande influência do pH do solo, alterações nesse fator têm efeitos indiretos sobre tais fungos. Por exemplo, a aplicação conjunta de calcário e fosfato tem efeito diferenciado na colonização micorrízica do milho pelo *Glomus mosseae* e *Gigaspora margarita* (Figura 10.18), enquanto a colonização pelo *Glomus mosseae* foi máxima com 240 mg kg⁻¹ de P e 8 meq de CaCO₃ para *G. margarita*; a colonização máxima nas condições do estudo ocorreu com 4 meq CaCO₃ e sem aplicação de P. Isso se dá devido a diferenças específicas de ambas as espécies em relação aos fatores edáficos, especialmente do pH. A calagem e a adição de fosfato são fatores de grande efeito nas MAs nos solos tropicais, geralmente muito ácidos e deficientes em P. Essas práticas alteram as condições químicas do solo e a composição das comunidades indígenas de FMAs, favorecendo a dominância de certas espécies (Figura 10.15).

pH do solo

O pH é um fator importante para a ecologia e distribuição desses fungos que exibem comportamento diferencial em relação a ele. As MAs ocorrem em solos com pH variando de 3 a 10, exibindo, portanto,

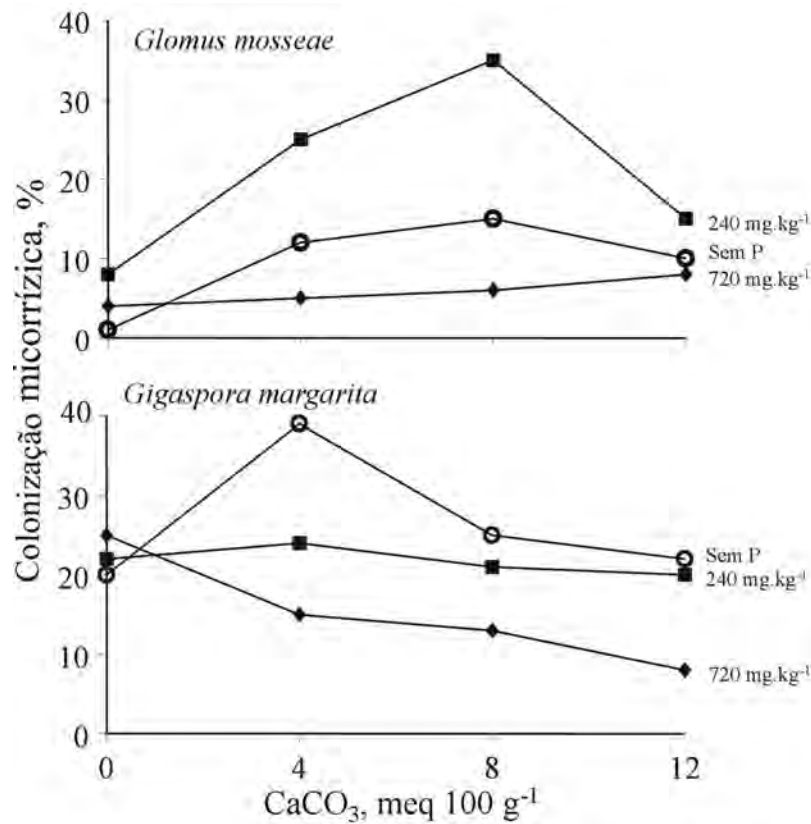


Figura 10.18. Interação calagem e fosfato na colonização micorrizica do milho por dois fungos MAs. (Siqueira, 1983.)

grande plasticidade em relação a esse fator. Tal comportamento resulta da tolerância diferenciada aos metais em concentrações tóxicas, geralmente presentes em solos ácidos (Al, Mn), onde a calagem reverte a ação fungistática desses metais sobre os fungos. Verifica-se, por exemplo, que a germinação dos esporos é inversamente proporcional a porcentagem de saturação de Al no solo (**Figura 10.19**), a qual é inversamente relacionada ao pH do solo. Em condições de elevada saturação, a taxa de germinação reduziu à metade para as três espécies de *Glomus* que são sensíveis à elevada acidez. Em estudo deste laboratório, verificou-se que, quando fungos originados de um solo com pH 4,8 foram colocados para multiplicar em *Brachiaria decumbens* em solo com pH original de 4,9 corrigido para 6,1, predominou *Acaulospora scrobiculata*. No solo original com pH 4,9, 17% dos esporos eram de *Gigaspora margarita*, enquanto com pH 6,1 essa espécie foi totalmente substituída por *Glomus etunicatum*, evidenciando os efeitos das alterações da acidez do solo, o que pode causar modificações na estruturação da comunidade de FMAs indígenas. Em levantamentos feitos no Estado de Minas Gerais, *Glomus etunicatum* não foi

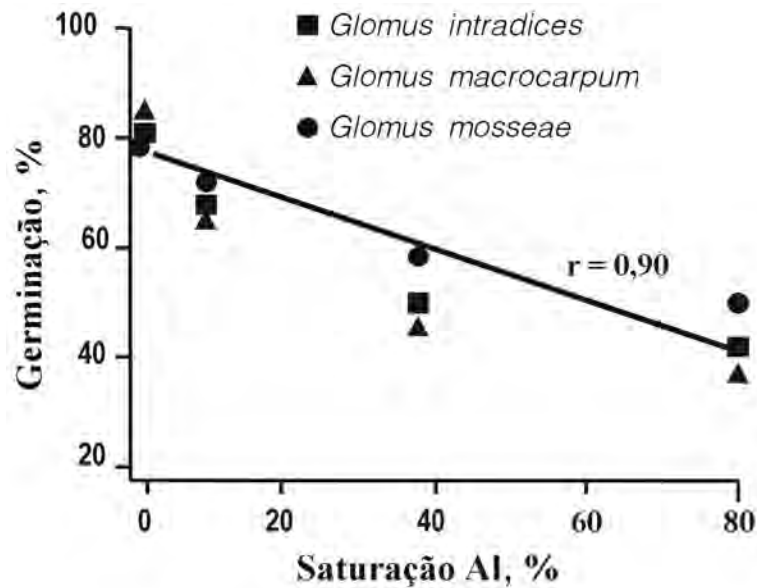


Figura 10.19. Relação entre a saturação de Al no solo a germinação de esporos de fungos MAs do gênero *Glomus*. (Siqueira, 1983.)

encontrado em solos com $\text{pH} < 5,0$, enquanto naqueles com $\text{pH} > 5,0$, apenas *E. colombiana* não ocorreu. *Glomus etunicatum* também não foi recuperado de nenhuma amostra de solo com mais de $1,0 \text{ cmol}_c \text{ de Al dm}^{-3}$. Esse comportamento explica porque essa é a espécie de *Glomus* predominante nos solos de cerrado cultivados naquele Estado, onde a calagem é prática necessária. Os efeitos indiretos da acidez ou de sua correção nas condições químicas e biológicas atuam também sobre outros microrganismos como bactérias e actinomicetos antagonistas que influenciam os fungos MAs. Estudos de J. O. Siqueira (não publicados) mostraram que os actinomicetos podem produzir substâncias voláteis que inibem completamente a germinação de esporos de *Glomus mosseae* em condições controladas.

Os resultados de estudos ecológicos relacionando a ocorrência de FMAs com pH de solos tropicais permitem identificar três categorias de fungos em relação à acidez:

- a) espécies que predominam em solos com elevada acidez, ex.: *Glomus diaphanum*, *Paraglomus occultum*, *Entrophospora colombiana*, *Scutellospora* sp., *Gigaspora margarita* e *Acaulospora laevis*;
- b) espécies que preferem solos pouco ácidos ou neutros, ex.: *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Sclerocystis* sp., *Glomus fasciculatum* e *Glomus etunicatum*;
- c) espécies que são indiferentes à acidez do solo, ex.: *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora morrowiae* e *Glomus aggregatum*.

Metais pesados

A presença de metais pesados em concentrações tóxicas no solo exerce grande influência sobre os FMAs. O excesso de metais reduz a germinação dos esporos, o crescimento micelial, o grau de colonização e a esporulação desses fungos, causando grande impacto na sua ecologia e diversidade (Klauber-Filho et al., 2005). Apesar desses efeitos, mais de 30 espécies de FMAs têm sido encontradas em solos contaminados ao redor do mundo e algumas com alta frequência, como *Paraglomus occultum*, *G. clarum*, *Glomus intraradices* e *Scutellospora pellucida*, além de colonização e esporulação abundantes. Mesmo em condições de elevada concentração de metais tóxicos, têm sido relatadas altas taxas de colonização e densidade de esporos (Gaur & Adholeya, 2004), mas em solos de Minas Gerais, contaminados com Cd, Zn, Cu e Pb, a riqueza de espécies decresce com o nível desses metais no solo (Klauber-Filho et al., 2002). A biodisponibilidade desses metais está relacionada com o pH do solo, reduzindo a calagem dos solos ácidos o efeito adverso desses elementos, aumentando a colonização e a contribuição dos FMAs para as plantas. A presença de Mn, Cu, Zn, Cd e Ni inibe a germinação de esporos e o crescimento micelial e reduz a colonização micorrízica das plantas. Diversos estudos evidenciam o comportamento diferenciado dos FMAs em relação ao excesso de metais no solo, sendo conhecidos vários isolados tolerantes a diversos metais contaminantes de solo. Klauber Filho (1999) avaliou o comportamento da germinação e o crescimento do tubo germinativo em solo contaminado por Zn, Cu, Cd e Pb, constatando relação inversa entre a germinação de esporos e as concentrações desses elementos no solo, mostrando os isolados *G. margarita*, *Paraglomus occultum*, *S. pellucida*, *G. etunicatum*, *S. gregaria*, *Paraglomus occultum*-CMM104 e *S. fulgida*-CMM106 certa tolerância aos metais pesados quanto à germinação. Considerando a importância desses fungos para a ecologia das plantas, isolados tolerantes aos metais pesados são de grande interesse na revegetação de solos degradados pelo acúmulo desses elementos. Plantas micorrizadas são favorecidas e têm mais chance de sobreviver em condições de excesso de metais pesados no solo (ver Klauber-Filho et al., 2005).

Planta hospedeira

Como mostrado na figura 10.16, as espécies de planta exibem diferentes suscetibilidades à colonização, apresentando variações inter e intra-específicas, e como esse fungos dependem das plantas para completarem seu ciclo de vida, sua ocorrência tem relação direta com a vegetação. As características das plantas que afetam a colonização e a ocorrência dos FMAs acham-se resumidas na tabela 10.9. Mesmo dentro de famílias tipicamente micorrízicas, existem espécies que resistem à colonização, como o gênero *Lupinus* nas leguminosas. Os FMAs, em geral, não são específicos ou apresentam pouca especificidade hospedeira quando comparados com outras relações entre planta e microrganismos, e mesmo outros tipos de fungos micorrízicos, como os das ericóides e certas ectomicorrizas que exibem elevado grau de especificidade. Assim, o fungo isolado de determinada espécie pode colonizar qualquer outra suscetível à micorrização e, por isso, são consideradas universais, embora possa ocorrer certa “habilidade discriminatória” entre fungos e plantas como já discutido.

Especificidade hospedeira é definida como a “capacidade de estabelecer ou não a associação” e mede o grau de compatibilidade fungo-planta hospedeira, não devendo ser confundida com *efetividade* ou *eficiência simbiótica*, que é a “capacidade do fungo em promover crescimento, ou outro benefício qualquer, para a planta em condições definidas” envolvendo outros mecanismos. Várias espécies ou isolados de fungos exibem elevada capacidade de colonização (infectividade), mas podem ser pouco eficientes em beneficiar a planta. Isso decorre da característica do próprio fungo ou mesmo da planta, que, embora tenha compatibilidade simbiótica, não se beneficia da relação em termos de crescimento. Isso, no entanto, depende muito das condições de crescimento. As bases da compatibilidade fungo-planta ainda não são bem esclarecidas, mas determinadas pela genética dos parceiros.

As plantas são bem conhecidas pela capacidade de produzir enorme variedade de substâncias bioativas como os aleloquímicos, cujos efeitos sobre as micorrizas são ainda pouco conhecidos. Certos compostos aleloquímicos podem atuar como inibidores ou estimulantes da micorrização, interferindo na ocorrência dos FMAs. Compostos aromáticos comumente encontrados no solo como os ácidos fenólicos, quercetina e escopoletina, quando aplicados em baixa concentração (0,2 mM) estimulam a colonização do trevo, ocorrendo efeito inibitório em concentrações mais elevadas. Em solos com monocultura de aspargos em Michigan (EUA), verificou-se que a quantidade de compostos fenólicos em extratos aquosos de solo era de 63 mg kg⁻¹, 70% maior em relação ao solo adjacente sem essa cultura. Os principais ácidos fenólicos encontrados nesse ecossistema mostram-se inibitórios ao crescimento micelial e à colonização micorrízica do aspargo e de outras espécies vegetais (Siqueira et al., 1991a). A aplicação de ácido ferúlico e caféico a 2 mM e AMDC (ácido metilenodioxicinâmico) a 0,5 mM, ácidos normalmente encontrados em concentrações elevadas em lavouras de aspargos, inibiram a colonização dessa planta por *Glomus fasciculatum* em 30, 70 e 50% em relação ao controle sem aleloquímico. Isso pode afetar diretamente a cultura ou indiretamente alterar a população de FMAs indígenas e de outros microrganismos do solo, com conseqüências para a cultura. O envolvimento de substâncias bioativas sobre os FMAs precisa ser investigado em outros agrossistemas, como o cafeeiro, que libera grande quantidade de substâncias bioativas no solo.

Biota do solo

As condições biológicas do solo também interferem na ecologia das MAs. Existem vários predadores de hifas, como as colêmbolas e inúmeros hiperparasitas e antagonistas que consomem os esporos ou reduzem sua viabilidade no solo. Vários parasitas são conhecidos, destacando-se os fungos dos gêneros: *Rhizidiomycopsis*, *Phlyctochytrium*, *Anquillospora*, *Humicola*, *Stachybotrys* e outros. Os fungos que parasitam os esporos de FMAs são geralmente favorecidos por alta umidade no solo. Inúmeras bactérias não identificadas são ativas sobre os esporos de FMAs, podendo exercer ação inibitória ou estimulante da germinação e do crescimento micelial do fungo. Os efeitos inibitórios incluem, além da predação e do parasitismo, a produção de substâncias fungistáticas ou mesmo com ação tóxica. Os actinomicetos do solo produzem substâncias voláteis com alta atividade inibitória na germinação de esporos de certas espécies de FMAs, mas existem também organismos sinérgicos com os FMAs, como o caso de

bactérias produtoras de enzimas hidrolíticas como rizóbio, bactérias solubilizadoras de fosfato e *Azotobacter*, que facilitam a penetração das raízes pelo fungo, conhecidas como “helpers” (auxiliadores). Os efeitos estimulantes da microbiota sobre os FMAs podem ter as seguintes explicações:

- a) promover a destoxificação do meio de crescimento eliminando inibidores dos FMAs;
- b) aumentar a utilização de compostos dos próprios esporos com ação inibidora. Esses compostos são metabolizados pelos microrganismos associados que os desativam;
- c) produção de compostos estimulantes para os FMAs como aminoácidos, vitaminas e substâncias voláteis, como o CO₂.

Características, uso e manejo do solo

Características físicas como textura e condições de umidade do solo, aeração, inundação e compactação, exercem grande influência sobre as MAs. Os solos com elevado teor de umidade ou sujeitos à inundação, com aeração deficiente, portanto, são geralmente desprovidos de FMAs porque os fungos e as raízes são aeróbios e poucas espécies hospedeiras crescem nessas condições. No entanto, várias espécies de plantas aquáticas são normalmente micorrízicas. Embora os propágulos desses fungos possam sobreviver em condições extremamente secas, o máximo desenvolvimento das micorrizas coincide com as condições de umidade que favorecem o crescimento das plantas, isto é, próximas à capacidade de campo do solo. A alternância entre ciclos de umedecimento e secagem parece favorecer a esporulação dos FMAs; já a umidade elevada do solo favorece o desenvolvimento de hiperparasitas de esporos dos FMAs reduzindo-lhes a viabilidade. A temperatura do solo é outro fator físico de grande impacto nas MAs. Os FMAs exibem elevada capacidade de adaptação a variações de temperatura como exemplificado na **figura 10.20**, mostrando que o isolado 1 da região fria responde pouco à elevação de temperatura, sendo inibido acima de 35°C, enquanto o da região quente (isolado 2) responde positivamente à elevação da temperatura até 35°C, confirmando sua adaptação a esse fator ambiental. Esse comportamento de adaptação ambiental que é comum aos microrganismos do solo ocorre também nos FMAs.

A camada “arável” do solo é onde se concentram as raízes absorventes das plantas, tornando-se, por isso, o principal habitat e reservatório de propágulos de FMAs nos ecossistemas. Qualquer fator impactante sobre ela exercerá grande influência sobre as MAs. As principais práticas agrícolas que interferem nessa camada e os respectivos efeitos gerais sobre os fungos MAs indígenas encontram-se na **tabela 10.10**. Estudos em ecossistemas do Estado de Minas Gerais, desenvolvidos pelo grupo da UFLA, mostraram que o cultivo de solos de cerrado aumenta a colonização das raízes e a densidade total de esporos. Como exemplificado na figura 10.15, o cultivo desses solos causa também mudanças qualitativas na população de fungos MAs. Comparando-se ecossistemas com índice de ocorrência maior ou igual a 4%, observou-se a dominância de certas espécies de *Glomus* e *Acaulospora* nos agrossistemas e maior incidência de *Scutellospora*, *Entrophospora* e *Gigaspora* naqueles não alterados. As modificações na composição de espécies refletem alterações nas características físicas e químicas do solo resultantes das

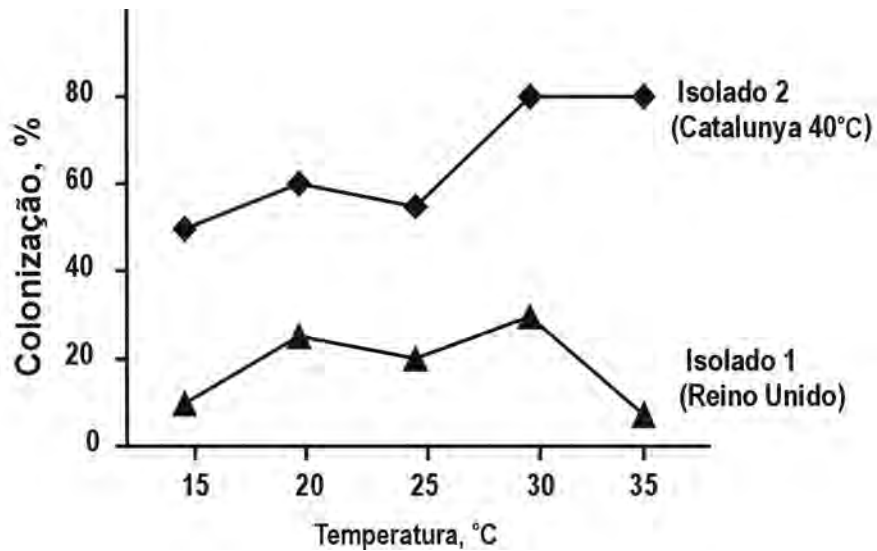


Figura 10.20. Adaptação de fungos MAs às variações de temperatura. Efeito da temperatura na colonização de *Hordeum vulgare* por dois isolados de *Glomus mossae* de diferentes origens. (Estaún et al., 1996.)

Tabela 10.10. Efeitos mais comuns de práticas agrônômicas que modificam o ambiente da camada arável e influenciam os FMAs indígenas.

Práticas agrícolas	Fungos indígenas		Aspectos gerais sobre as conseqüências da interferência
	Densidade*	Eficiência*	
Monocultura	+	-	Favorece a seleção para sobrevivência.
Policultura	+	+	Aumenta a diversidade genética do hospedeiro.
Rotação	-,+	+	Depende da relação fungo-hospedeiro.
Pousio	-	+	Reduz a colonização e a esporulação.
Cultivo intensivo	-	-	Reduz a infectividade e a esporulação.
Fertilizantes	-,+	-,+	Depende da fertilidade do solo e do tipo de cultura.
Calagem	+	-,+	Altera a população de FMA indígena.
Pesticidas	-	-,+	Geralmente reduz a colonização e elimina propágulos.

* Efeitos + e -: positivo e negativo respectivamente.

práticas de cultivo como aração, gradagem, calagem e adubações e também no tipo e quantidade de raízes. Para algumas espécies selecionadas, verificam-se tendências claras entre sua ocorrência e certas características do solo, mas tal ocorrência não necessariamente se correlaciona com as características químicas específicas do solo. A riqueza de espécies também é influenciada; enquanto nas amostras de cerrado natural, encontraram-se oito espécies predominantes, apenas três são dominantes nos agrossistemas estudados. Esse impacto do cultivo dos solos na riqueza de espécies pode tornar o sistema biológico mais vulnerável a alterações. Em agrossistemas de cafeeiro onde foi realizada amostragem extensiva, a densidade de esporos é baixa e, a comunidade fúngica, é dominada por poucas espécies. Os estudos desenvolvidos no Sudeste brasileiro mostram que a colonização das raízes dos cafeeiros por FMAs varia de 15 a 51%, existindo situações em que 88% dos segmentos de raízes finas são colonizadas, sendo o grau de colonização dependente de vários fatores. Mais de 45 espécies de FMAs já foram identificadas na rizosfera do cafeeiro, a maioria pertencentes ao gênero *Glomus*, seguido de *Acaulospora*. Observou-se forte relação entre a densidade de esporos no solo e o índice de ocorrência da respectiva espécie. A análise sobre a composição de espécies dos esporos na rizosfera indica que mais de 50% desse total pertence às espécies dominantes *A. scrobiculata*, *A. morrowiae* e *A. mellea*. Do gênero com maior riqueza de espécies (*Glomus*), a de maior ocorrência foi *G. etunicatum*.

Embora os FMAs sejam considerados pandêmicos, existem variações acentuadas causadas pelo tipo ou pela seqüência de cultura na composição de espécies. A comunidade fúngica é controlada principalmente pelo solo e pela vegetação, mas, para a mesma cultura, a riqueza de espécies e a densidade de esporos variam muito entre locais como exemplificado para a cultura do milho, cuja riqueza de espécies em Pernambuco e na Florida é quase o dobro do que foi encontrado em São Paulo (**Tabela 10.11**). Apesar de ser a mesma cultura, as espécies predominantes são diferentes; portanto, determinadas pelo ambiente, idéia que tem sido preconizada desde os primórdios da micorrizologia por B. Mosse de que “*esses fungos são mais específicos para solo (ambiente) que para a planta hospedeira*”. Para cafeeiros do Sudeste brasileiro, verifica-se também variação na composição de espécies dominantes, como pode ser resumido dos vários estudos já realizados e compilados em Siqueira (1996):

- a) no Sul de Minas Gerais predominam: *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora morrowiae*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora appendicula* e *Glomus etunicatum*;
- b) no Alto Parnaíba e no Triângulo Mineiro predominam: *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora morrowiae*, *Entrophospora colombiana*, *Acaulospora spinosa* e *Glomus etunicatum*;
- c) em São Paulo predominam: *Glomus fasciculatum*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora laevis*, *Scutellospora pellucida* e *Gigaspora gigantea*.

Como os FMAs são importantes componentes do ecossistema, há enorme interesse em estabelecerem as possíveis relações entre a ocorrência dos FMAs e a produtividade agrícola. Estudos recentes em solos cultivados do meio-Oeste americano (EUA) revelam que a monocultura prolongada com milho favorece a incidência de *Glomus occultum*, que se correlaciona negativamente com a produtividade da cultura, porém positivamente com a da soja em rotação. Já a monocultura desta favorece *Glomus microcarpum*, que se correlaciona negativamente com sua nutrição e produtividade, mas mostra-se positiva para o milho.

Tabela 10.11. Ocorrência de FMAs em lavouras de milho em diferentes locais (compilado por Siqueira & Saggin-Júnior, 1995).

Local Estado	Nº de espécies	Colonização* (%)	Esporos* (nº g ⁻¹ de solo)	Espécies predominantes de FMAs identificadas
MG	10	17-67 (36)	0,3-4,3 (1,6)	<i>G. etunicatum</i> , <i>A. morrowiae</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>A. spinosa</i> , <i>A. mellea</i> , <i>E. colombiana</i> , <i>S. gilmorei</i> e <i>G. margarita</i> .
PE	16	6-34 (21)	0,2-2,6 (1,4)	<i>A. laevis</i> , <i>A. scrobiculata</i> , <i>A. appendicula</i> , <i>P. occultum</i> , <i>G. heterogama</i> e <i>G. sinousum</i> .
SP	9	—	0,2-2,4 (1,0)	<i>S. heterogama</i> , <i>S. nigra</i> , <i>S. pellucida</i> , <i>S. gilmorei</i> , <i>G. macrocarpum</i> , <i>G. caledonicum</i> e <i>G. macrocarpum</i> .
Flórida (EUA)	14	—	< 0,60	<i>G. margarita</i> , <i>S. heterogama</i> , <i>G. macrocarpum</i> , <i>G. clarum</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>G. mossae</i> e <i>G. fasciculatum</i> .

*Amplitude e valor médio (entre parênteses) de todas as observações.

Esses resultados indicam que a monocultura prolongada seleciona fungos de rápido crescimento e esporulação, ocorrendo uma seleção para sobrevivência e não para eficiência no hospedeiro. Isso pode resultar na seleção de espécies de baixa eficiência ou parasíticas para a cultura, contribuindo para o chamado “declínio da monocultura”, fenômeno que pode se reverter quando se pratica a rotação de culturas. No Brasil, verifica-se que no agrossistema cafeeiro, uma monocultura, predominam na rizosfera espécies do gênero *Acaulospora*, principalmente a *A. scrobiculata*, pouco eficiente para esta cultura.

O sistema de uso da terra exerce grande influência nos FMAs, sendo que várias mudanças impostas no ecossistema pelo homem reduzem o desenvolvimento das MAs até em 80% (Tabela 10.12) e isso pode ter conseqüências para a sustentabilidade. A ausência de vegetação e a erosão acentuada do solo reduzem ou eliminam as MAs. Isso se deve principalmente ao fato de os FMAs serem biotróficos obrigatórios e, por isso, depender do fornecimento de fotoassimilados das raízes para completar seu ciclo e produzir os novos propágulos. O melhoramento genético das culturas para produtividade, geralmente realizado em condições de elevada fertilidade do solo e com o uso intensivo de fungicidas e cultivo do solo, tem contribuído para a redução da colonização micorrízica em genótipos comercializados de algumas culturas agrícolas. A baixa suscetibilidade desses genótipos aos fungos micorrízicos reduz a infectividade dos solos onde são cultivadas. Em solos manejados intensamente, para culturas agrícolas, encontra-se, tipicamente, apenas 1 esporo por grama de solo, ao contrário daqueles sob sistema de plantio direto, onde se verifica maior abundância de FMAs.

Tabela 10.12. Alterações no ecossistema e fatores que geralmente reduzem as MAs (Johnson & Pfleger, 1992; Thompson, 1994; Abbott & Robson, 1991).

Fator de mudança	Mecanismo ou processo
Eliminação da vegetação	Desmatamento, uso do fogo, pastejo intensivo, poluição atmosférica e do solo.
Perda da camada arável	Erosão e decapitação do solo reduz raízes e propágulos.
Cultivo intensivo	Compactação, quebra da macroestrutura e do micélio fúngico no solo.
Sistema de produção	Monocultura prolongada, cultivo de espécie não-hospedeira e pousio prolongado do solo.
Melhoramento vegetal	Seleção inadvertida para genótipos não-micorrízicos ou com menor grau de micotrofia.
Uso de fertilizantes	Quantidades elevadas ou desbalanceadas de nutrientes.
Uso de pesticidas	Fungicidas sistêmicos e produtos fumigantes em geral.
Inundação e empilhamento do solo	Redução da viabilidade, dos propágulos e da colonização

A baixa colonização micorrízica das culturas pode ter conseqüências drásticas a médio e a longo prazo para sua produção e sustentabilidade, considerando os efeitos benéficos dessa simbiose para as plantas. Para compensar as conseqüências da baixa colonização que geralmente reduz a produtividade das culturas, maiores quantidades de fertilizantes e pesticidas são recomendadas. Isso reduzirá ainda mais a colonização das raízes e, conseqüentemente, a esporulação do fungo, diminuindo cada vez mais a infectividade do solo e sua capacidade de formar MAs espontaneamente. Para aumentar as MAs e minimizar esses efeitos negativos da baixa micorrização, recomenda-se a rotação com plantas muito micotróficas, como as leguminosas, a redução no uso de insumos químicos e a adoção do cultivo mínimo do solo. Isso contribuirá para a manutenção da atividade das MAs no agrossistema. De fato, estudos de campo comprovam maior contribuição das MAs para a absorção de P pelo milho em solo sob cultivo mínimo em relação ao cultivo convencional, efeito que se relaciona com a aplicação de P no solo.

O uso de pesticidas representa outro fator de grande influência sobre as MAs. Os efeitos desses produtos dependem basicamente do tipo de molécula, do modo de ação, da taxa e da freqüência de aplicação. A literatura é bastante vasta no assunto, existindo tanto efeitos benéficos quanto maléficis sobre os FMAs, sendo alguns dos efeitos generalizados apresentados na **tabela 10.13**. Tais efeitos são muitas vezes difíceis de avaliar, pois podem atuar diretamente sobre os FMAs ou, indiretamente, sobre a planta

Tabela 10.13. Efeitos generalizados de agroquímicos sobre as MAs.

Produtos	Efeitos mais comuns
Fumigantes de solo	Elimina os propágulos e a colonização micorrízica, resultando em plantas com sintomas de raquitismo e severa deficiência nutricional.
Fungicidas	Efeitos muito variados, dependendo de classe, dose e frequência de aplicação. Os sistêmicos são geralmente detrimenais. Fosetyl-AI e metalaxyl estimulam a colonização e a esporulação.
Herbicidas	Geralmente não têm efeito inibitório, alguns estimulam a colonização e a esporulação. Eliminação de plantas hospedeiras pode reduzir população de FMAs no solo.
Nematicidas e inseticidas	Geralmente não têm efeitos adversos, quando empregados nas doses recomendadas. Por exemplo, DBPC favorece a micorrização.
Fertilizantes	Difícil fazer generalização. Os efeitos da aplicação de fertilizantes minerais dependem da fertilidade original do solo, dosagem e composição aplicada, frequência de aplicação e exigência nutricional do hospedeiro.

hospedeira e, ainda, sobre aspectos químicos do solo ou de sua biota. Quando aplicados em doses recomendadas, os herbicidas geralmente não têm efeitos inibitórios diretos e alguns podem até mesmo estimular a colonização. Os nematicidas e os inseticidas geralmente também não exercem nenhum efeito negativo quando aplicados corretamente. Já os fungicidas têm efeito muito variado devido ao modo de ação. Os benzimidazoles são os mais prejudiciais aos FMAs, enquanto o fosetyl-AI e metalaxyl podem estimular a micorrização. Os produtos com ação fumigante de solo têm efeitos devastadores, pois eliminam os propágulos e evitam a colonização. Deve-se ressaltar que mesmo os produtos que não atuam diretamente sobre as FMAs podem causar alterações quantitativas e qualitativas sobre esses fungos e sua simbiose. Por exemplo, o uso continuado de um único produto pode provocar alterações na vegetação e no equilíbrio biológico do solo e, assim, afetar a longo prazo as MAs.

É difícil fazer generalização ou predições sobre a ecologia dos FMAs, mas, de modo geral, a ocorrência desses fungos e da simbiose tende a ser alta em sistemas de baixo insumo e muito baixa naqueles de alto insumo, onde a simbiose geralmente tem contribuição reduzida no crescimento das plantas, pois elas estão bem supridas em nutrientes. Em ecossistemas em equilíbrio, a densidade de FMAs é baixa, mas a diversidade pode ser alta. As condições edafoclimáticas dominantes nos ecossistemas manejados intensivamente e sem rotação de culturas favorecem a dominância de espécies e reduzem a ocorrência e a importância das MAs para as plantas. Não obstante, as tendências de modificações para sistemas de produção mais equilibrados biologicamente, como redução no uso de agroquímicos, adoção do cultivo mínimo e de rotação de culturas, contribuirão para aumentar a ocorrência e a atividade das MAs nos sistemas agrícolas e isso, certamente, influenciará sua sustentabilidade.

10.3.7. Efeitos no crescimento da planta hospedeira

O efeito das MAs no crescimento das plantas foi indiretamente detectado por Asai, por volta de 1940, que observou crescimento reduzido em certas espécies, quando cresciam em solo esterilizado para controle de doenças. Na década seguinte, Barbara Mosse, trabalhando na Inglaterra, demonstrou a formação das MAs e verificou que mudas de macieira inoculadas com esporocarpos de *Endogone* (hoje a maioria pertencente ao gênero *Glomus*) cresceram mais e continham teores mais elevados de vários nutrientes. Na década de 60, vários estudos em diversas partes do mundo, especialmente nos EUA, mostraram resultados semelhantes com milho e outras espécies vegetais. No entanto, os efeitos estimulantes do crescimento das plantas só ficaram evidentes e passaram a merecer mais atenção após os problemas de crescimento de mudas de espécies frutíferas, cultivadas em viveiros com solo fumigado na Califórnia (EUA). O crescimento reduzido foi atribuído à eliminação dos propágulos de FMAs do solo e não à toxicidade residual do fumigante, como se pensava inicialmente quando surgiu esse problema. No início da década de 70, Ross, trabalhando na Universidade da Carolina do Norte, demonstrou que em solo infestado com propágulos de FMAs, a produção de grãos da soja foi de 122%, 67% e 12% maior do que, em solo isento destes propágulos em condições de P baixo, médio e alto, respectivamente. Atualmente, os efeitos benéficos das MAs no crescimento das plantas são amplamente documentados podendo esses efeitos alcançarem valores até de 8.000% (Siqueira & Franco, 1988). Alguns exemplos de efeitos benéficos dos FMAs são apresentados na **tabela 10.14**, e deve-se considerar que eles dependem de características da planta, das condições ambientais (solo e clima) e do fungo (**Tabela 10.15**). Em condições de baixa luminosidade ou elevada fertilidade, a micorrização pode ter efeitos depressivos para a planta.

Os benefícios para as plantas resultam de vários efeitos e mecanismos (**Figura 10.21**). A capacidade do fungo de estimular o crescimento da planta é determinada pelas características e por todos os componentes da simbiose (**Tabela 10.15**), principalmente do microbionte que pode apresentar diferentes graus de eficiência, sendo até mesmo ineficaz ou parasita temporário, dependendo da planta hospedeira e das condições de crescimento da planta. As plantas variam quanto ao grau de benefício da associação, característica conhecida como *responsividade*, aqui definida como a magnitude da resposta da planta à micorrização com determinado fungo e condição de crescimento como ilustrado na **figura 10.22**, que mostra duas situações contrastantes de responsividade. O estilosantes é muito mais responsivo e dependente de micorriza do que a *Brachiaria decumbens*, dependendo este comportamento, entre outras características, da exigência nutricional e capacidade da planta em absorver P, no caso do presente estudo. Assim, a eficiência do fungo e a disponibilidade de P no solo são fatores determinantes dessa resposta. No caso de espécies arbóreas nativas, tem-se verificado que aquelas com sementes grandes e com baixa exigência ou alta eficiência nutricional (crescem bem com baixos teores de nutrientes) são geralmente pouco responsivas ou respondem positivamente à micorrização em condições de baixa disponibilidade de nutrientes. Exemplos de respostas de mudas de algumas espécies arbóreas à adição separada de fósforo e inoculação com FMA ou aplicação conjunta desses fatores encontram-se na **tabela 10.16**. As MAs são consideradas não específicas para a colonização, mas os efeitos no crescimento variam muito para diferentes combinações fungo-planta, ver figura 10.16a e condições de P disponível (**Tabela 10.17**).

Tabela 10.14. Exemplos de plantas e fungos estudados quanto à resposta à micorrização no Brasil (Estudos de vários autores, compilados em Siqueira & Klauber-Filho, 2000).

Planta	Fungo	Principal resposta/efeito no hospedeiro
Abacaxi	<i>Glomus clarum</i> , <i>Gigaspora margarita</i> e <i>Glomus etunicatum</i>	Maior crescimento de mudas propagadas.
Cana-de-acúcar	<i>Glomus clarum</i> e <i>Entrophospora colombiana</i>	Maior crescimento, porém sem efeito nutricional.
Cafeeiro	<i>Glomus clarum</i> , <i>Gigaspora margarita</i> e <i>Glomus etunicatum</i>	Maior crescimento, sobrevivência e produção em campo.
Citros	<i>Glomus clarum</i> , <i>Gigaspora margarita</i> e <i>Glomus etunicatum</i>	Maior desenvolvimento das mudas e melhor nutrição.
Eucalipto	<i>Glomus etunicatum</i>	Maior crescimento e sobrevivência das mudas.
Feijoeiro	<i>Glomus etunicatum</i>	Maior crescimento e nodulação.
Mamoeiro	<i>Glomus etunicatum</i> e <i>Entrophospora colombiana</i>	Maior crescimento e melhor nutrição.
Milho	<i>Glomus clarum</i> e <i>Glomus etunicatum</i>	Maior crescimento e melhor nutrição.
Tomateiro	<i>Glomus clarum</i> , <i>Gigaspora margarita</i> e <i>Glomus etunicatum</i>	Maior crescimento e eficiência de uso de P.
Trigo	<i>Glomus</i> sp.	Maior crescimento em solo com alto teor de Al. Maior conteúdo e translocação de P.

Tabela 10.15. Características e fatores relacionados à eficiência simbiótica em micorrizas arbusculares.

Componente	Característica	Principais fatores relacionados
Planta	Sistema radicular	Tipo, ramificação, pêlo radicular, área de superfície, longevidade e taxa de crescimento.
	Requerimento nutricional	Taxa de absorção, concentração no tecido, demanda, distribuição, eficiência de uso, consumo de luxo e realocação.
	Outras características	Tolerância a estresse, suscetibilidade a doenças, taxa fotossintética e de crescimento e ciclo vegetativo.
Fungo	Infectividade	Taxa de germinação e de colonização, colonização secundária, formação e duração dos arbúsculos.
	Hifa externa	Taxa de crescimento, capacidade de absorção e translocação, atividade metabólica e longevidade.
	Esporulação	Ontogenia, dormência, quiescência, crescimento micelial e intensidade de esporulação.
Relação fungo-planta	Interface celular	Dreno de fotoassimilados (custo energético da simbiose).
	Taxa metabólica	Transferência de P absorvido para o hospedeiro.
	Troca de metabólitos	Alterações fisiológicas na planta (ex. fotossíntese).
	Regulação funcional	Integração funcional dos simbiontes (custo/benefício).

No caso do cafeeiro, esses resultados são para plantas na fase de mudas e essa espécie pode apresentar comportamento diferente em relação às micorrizas na fase adulta em condições naturais. Por exemplo, na fase jovem como mudas e início de formação no campo em solo de baixa fertilidade, o cafeeiro é muito responsivo a P e às micorrizas, mas não se verifica o mesmo com plantas adultas em lavouras estabelecidas no campo (Siqueira et al., 1998b). Plantas adultas são menos responsivas, possivelmente por apresentar elevado grau de colonização micorrízica, o que confere alta eficiência de absorção do sistema radicular ou por se tornarem menos exigentes em P e, assim, menos responsivas às MAs. Situação inversa pode ocorrer: algumas espécies podem mostrar-se pouco responsivas na fase jovem e responsivas ou dependentes em fase adulta, como parece ser o caso da copaíba (*Copaifera langsdorffii*). Entretanto, métodos exequíveis para avaliar a contribuição real das micorrizas em plantas perenes e ecossistemas florestais ou agrossistemas estabelecidos ainda não foram desenvolvidos.

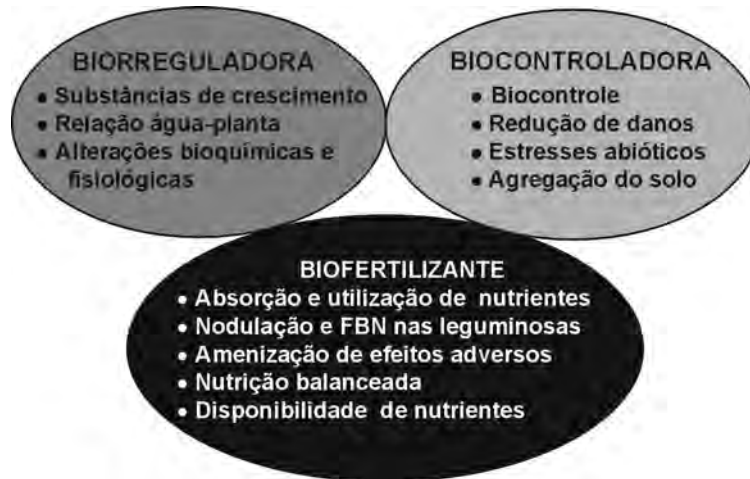


Figura 10.21. Os papéis das MAs no crescimento das plantas. Ação biofertilizante como primária e as secundárias mediadas pelas melhorias nutricionais. (Siqueira & Klauberg-Filho, 2000.)

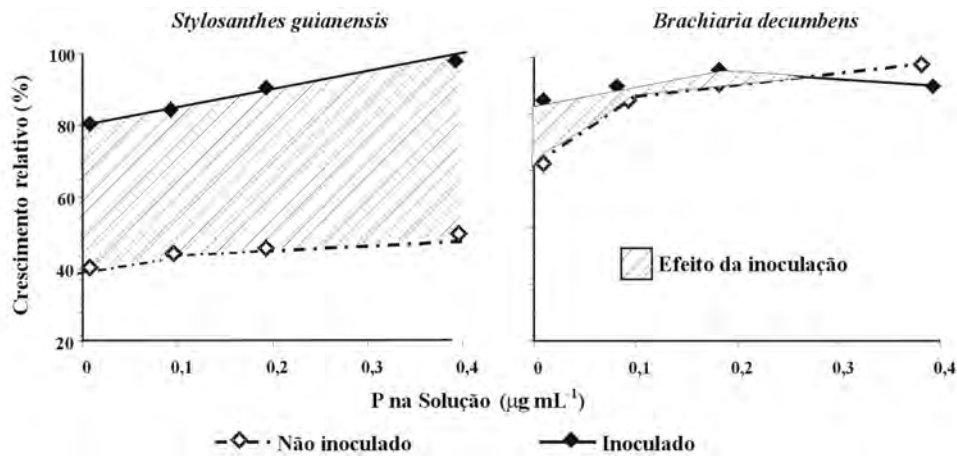


Figura 10.22. Crescimento do *Stylosanthes* e da *Brachiaria* com e sem micorriza (*Glomus etunicatum*) em função da disponibilidade de P na solução do solo. (J.O. Siqueira, não publicado.)

Tabela 10.16. Exemplos de respostas diferenciadas de mudas de árvores nativas a fósforo (P) e micorriza (M) (Carneiro et al., 1996).

Espécie	Controle	M	P	P + M	Resposta
-----Matéria seca (g)-----					
Jatobá	4,0 a	3,9 a	4,8 a	5,0 a	Indiferente a P e M
Bauhinia	0,9 b	0,9 b	1,6 a	1,8 a	Apenas a P
Jambolão	0,3 b	3,8 a	0,8 b	3,7 a	Apenas a M
Trema	0,1 b	1,6 a	1,7 a	1,6 a	Tanto a M quanto P
Saboneteira	0,4 c	1,1 b	1,3 b	2,1 a	Sinergismo P + M

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 10.17. Efeito das MAs no crescimento (matéria seca, g planta⁻¹) de algumas espécies de plantas não inoculadas (Ni) e inoculadas (M) com isolados selecionados, em condições de alto e de baixo P no solo (Sieverding, 1991).

Espécie	Baixo P (< 20 µg g ⁻¹ solo)		Efeito (M/Ni)	Alto P (> 100 µg g ⁻¹ solo)		Efeito (M/Ni)
	Ni	M		Ni	M	
Mandioca	0,3	4,3	14,3	0,5	16,4	32,8
Caupi	1,0	2,6	2,6	13,7	36,3	2,6
Estilosante	0,1	1,3	13,0	2,7	12,2	4,5
Andropogon	0,2	1,3	6,5	34,2	32,2	0,9
Feijoeiro	1,1	3,1	2,8	8,3	25,0	3,0
Milho	1,2	4,8	4,0	59,4	53,7	0,9
Arroz	3,8	3,8	1,0	30,6	31,6	1,0
Soja	3,3	4,4	1,3	8,7	19,3	2,2
Cafeeiro	0,5	0,5	1,0	1,0	2,5	2,5

Acredita-se que as respostas diferenciadas das plantas à micorrização tenham relações com seu grau de evolução ou são resultantes de processos de seleção ou melhoramento genético, no caso de espécies cultivadas. É comum encontrar genótipos melhorados com baixa suscetibilidade e reduzida resposta à micorrização. Esses, no entanto, são muito exigentes em nutrientes. Outro conceito importante é a *dependência micorrízica*, que se refere à incapacidade da planta de crescer na ausência de micorriza, abordado mais adiante.

Dependência micorrízica

Dependência micorrízica (DM) foi definida por Gerdemann em 1975 como sendo “o grau pelo qual a planta é dependente à condição micorrízica para crescimento máximo em um dado nível de fertilidade do solo”. A DM, nesse caso, é calculada pela relação entre o crescimento da planta micorrizada e não micorrizada expresso em percentagem. Empregando esse procedimento para o cálculo da DM, obtêm-se valores que variam de 100 (nenhuma dependência) a extremamente elevados, dificultando comparações entre diferentes plantas. Devido a isso, Plenchette et al. (1983) sugeriram expressar a DM como “a diferença percentual entre o crescimento de plantas com e sem micorriza”. Por esse procedimento, os valores vão de 0 (sem dependência) a 100% (dependência máxima), quando a planta não cresce na ausência de micorriza. Nesse caso, a espécie seria considerada micotrófica obrigatória. A definição de Gerdemann foi amplamente aceita, mas sua coerência conceitual e aplicação tornou-se muito questionada, especialmente por ser influenciada pelas condições de crescimento, ex.: disponibilidade de P. Janos (1988) considerou a DM como uma característica intrínseca da planta e a definiu como “a incapacidade da planta de crescer na ausência de micorriza num determinado nível de fertilidade”. A DM, nesse caso é determinada pelo nível de P no solo em que a micorriza ainda estimula a planta, independentemente da magnitude das respostas à inoculação (responsividade). Assim, quanto maior esse nível de P, maior é a DM da planta. É importante entender que a diferença entre o crescimento da planta micorrizada e sem micorriza mede sua responsividade, isto é, a magnitude do efeito e não sua DM. De qualquer modo, a diferença entre DM e responsividade é pequena, porém importante. Respostas hipotéticas típicas das plantas à micorrização são ilustradas na **figura 10.23**. As plantas *A* e *B* são dependentes e responsivas, porém *B* é menos dependente que *A*, enquanto a planta *C* é muito dependente, porém pouco responsiva (reduzido efeito). Em relação aos padrões de resposta ao fungo, tem-se eficiência simbiótica decrescente de *a* a *d*, sendo que o fungo *e* comporta-se como um parasita para essa planta. Essa situação de efeito parasítico não ocorre com frequência, existindo apenas um caso bem documentado, que é *Glomus macrocarpum* em tabaco no Sudeste dos EUA, onde causa queda de produtividade da cultura, um problema sanado com a introdução de gramíneas para aumentar a população de outros FMAs do solo, reequilibrando a comunidade de FMAs.

Tradicionalmente, as plantas são separadas em dois grupos quanto à DM: não micotróficas e micotróficas. Mais recentemente, baseando-se na capacidade das plantas de crescer com e sem micorriza em nível deficiente (0,002 mg L⁻¹ de P) ótimos para resposta das plantas à inoculação (0,02 mg L⁻¹ de P na solução do solo) e ótimo para o crescimento da planta sem micorriza (0,2 mg L⁻¹ de P), tem sido possível separar vários grupos de hospedeiros em função do grau de dependência ao fungo (Habte & Manjunath, 1991). Aplicando-se esse procedimento, tem-se a seguinte categorização:

- a) hospedeiras não dependentes: aqueles que não colonizam e obviamente não respondem à inoculação;
- b) dependência marginal: aquelas que apresentam valores de DM inferiores a 25% em solo com 0,02 mg L⁻¹ de P em solução e nenhuma resposta em 0,2 mg L⁻¹;

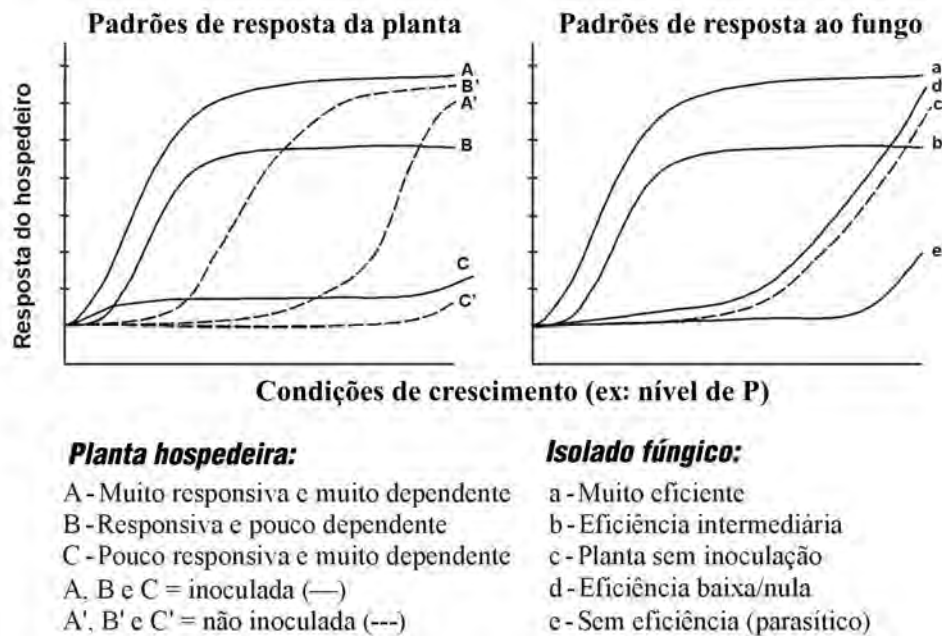


Figura 10.23. Respostas hipotéticas da planta à inoculação com fungos MAs enfatizando os aspectos específicos da planta e do fungo em diferentes condições de crescimento (ex.: P disponível). Para comportamento da resposta, deve-se levar em consideração o crescimento da planta micorrizada em relação à não micorrizada.

c) dependência moderada: aquelas que apresentam valores de DM entre 25 e 50% em 0,02 mg L⁻¹ de P e nenhuma resposta em 0,2 mg L⁻¹;

d) dependência alta: aquelas que apresentam valores de DM entre 50 e 75% em 0,02 mg L⁻¹ de P no solo e nenhuma resposta em 0,2 mg L⁻¹;

e) dependência extrema: aquelas que apresentam valores de DM superiores a 75% com 0,02 mg L⁻¹ de P no solo e superior a zero em 0,2 mg L⁻¹.

Siqueira & Saggin-Junior (2001) avaliaram a DM de mudas de 29 espécies arbóreas do Sudeste brasileiro e, segundo esse critério, encontraram que 10 delas eram não micorrizo-dependentes, enquanto as demais foram enquadradas como altamente dependentes ou com dependência extrema, evidenciando o alto grau de micotrofismo das espécies arbóreas nativas do Sudeste brasileiro. As espécies cultivadas e forrageiras comportam-se, em geral, como estas nativas, existindo poucas exceções a tal situação.

Mecanismos de promoção de crescimento

Os mecanismos pelos quais as MAs aumentam o crescimento das plantas podem ser nutricionais e não nutricionais (**Tabela 10.18**), sendo os nutricionais mais comuns e consistentes. Em geral, os benefícios das MAs são controlados por um fluxo bidirecional de nutrientes do fungo para a planta e de fotossintatos da planta para o fungo, sendo este estimado em 10 a 15% da fotossíntese total. Plantas micorrizadas geralmente apresentam teores mais elevados de certos nutrientes, principalmente daqueles com mobilidade reduzida no solo, como é o caso de P, Zn, Cu e Ca na maioria dos solos tropicais. A relação entre o teor de P disponível com a colonização, crescimento e teor de P na planta são ilustrados na **figura 10.24**. Verifica-se que os benefícios existem até certo nível de P e que a colonização é muito sensível a esse nutriente. Este é o modelo típico de resposta das plantas aos FMAs e, por isso, evidencia que o principal mecanismo de estímulo no crescimento da planta é via melhor nutrição. Contudo, esse não é o único mecanismo estimulante do crescimento. Dos papéis benéficos que as MAs têm sobre as plantas, o que resulta em melhoria nutricional (biofertilizante) é considerado o primário e, os demais, em sua grande maioria, resultantes dele (Figura 10.21). Presume-se que os benefícios das MAs para o crescimento das plantas se relacionam diretamente com o grau de colonização das raízes. No entanto, essa relação nem sempre é observada, devido a vários fatores, como a sazonalidade da colonização e resposta dinâmica a exigências de crescimento da planta, ciclo do fungo e condições de crescimento.

Tabela 10.18. Principais efeitos promotores das MAs no crescimento vegetal.

Efeitos nutricionais	Efeitos não nutricionais
Aumento na absorção de nutrientes.	Favorecimento na relação água-planta.
Utilização de algumas formas não disponíveis no solo.	Produção e acúmulo de substâncias de crescimento.
Armazenamento temporário de nutrientes.	Redução dos danos causados por patógenos.
Favorecimento de microrganismos benéficos como fixadores de N ₂ e solubilizadores de fosfato.	Maior tolerância a estresses ambientais e fatores fitotóxicos (ex.: herbicidas e poluentes orgânicos e metais).
Amenização dos efeitos adversos do pH e excesso de metais na absorção de nutrientes.	Melhoria na agregação do solo e maior acúmulo de substâncias bioativas

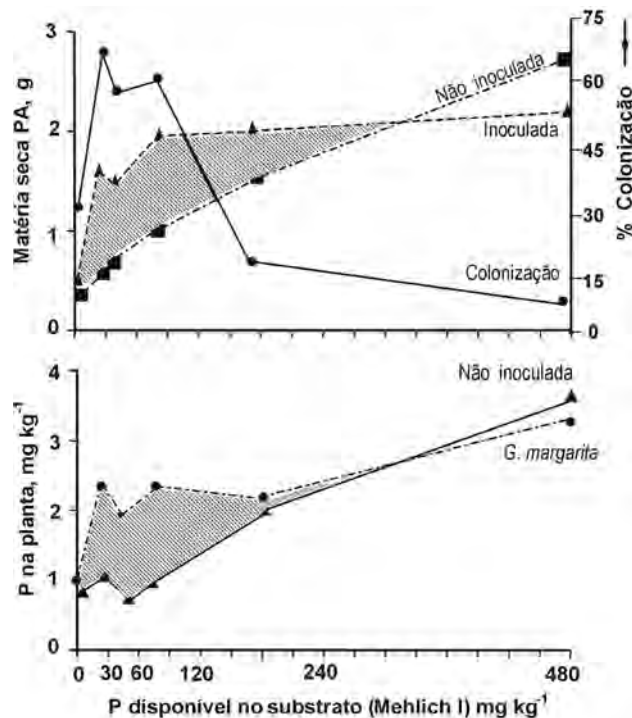


Figura 10.24. Crescimento, colonização e teor de P em mudas de cafeeiro com e sem inoculação com *G. margarita* em solo com diferentes disponibilidades de P. (Saggin-Júnior & Siqueira, 1996.)

10.3.8. Efeitos nutricionais

Plantas micorrizadas possuem maior capacidade de absorção e por isso geralmente acumulam maiores quantidades de vários macro e micronutrientes, como também de certos elementos como Br, I, Cl, Al, Si e metais pesados. Os teores de N, K, Ca, Mg e Na geralmente são menores, enquanto os de S, P e C são geralmente maiores nas plantas com MAs. A diminuição nos teores resulta, na maioria dos casos, de efeitos de diluição provocados pelo maior crescimento das plantas micorrizadas e não à sua menor absorção. Um resumo dos principais efeitos nutricionais encontra-se na **tabela 10.19**. Esses efeitos, no entanto, dependem da disponibilidade relativa de cada nutriente no solo e de processos fisiológicos e do desenvolvimento na planta.

Respostas típicas de plantas micotróficas, aquelas que dependem do fungo para absorção de nutrientes, seguem a tendência apresentada na figura 10.24 para mudas de cafeeiro crescendo em substrato com níveis crescentes de P disponível. Em níveis abaixo do ótimo para o crescimento da planta, ocorre grande resposta à inoculação e elevada taxa de colonização radicular. À medida que P no solo aumenta

Tabela 10.19. Efeitos generalizados das MAs na nutrição da planta hospedeira (Siqueira & Saggin-Júnior, 1995).

Nutriente	Principal efeito ou mecanismo sobre a concentração ou acúmulo
Nitrogênio	Concentração no tecido é reduzida (efeito de diluição) e quantidade acumulada aumentada. Altera absorção de N-mineral e favorece a fixação biológica de N ₂ .
Fósforo	Concentração e acúmulo nos tecidos são aumentados em razão de melhor aproveitamento de P do solo.
Manganês	Concentração geralmente reduzida por causa de menor absorção e efeito de diluição.
Zinco e cobre	Concentração e acúmulo aumentados em virtude de maior absorção. Redução do efeito da deficiência induzida por alto P.
Cátions básicos e enxofre	Efeitos na concentração dependem da disponibilidade e do balanço. Quantidade acumulada é geralmente aumentada. São efeitos secundários ou indiretos das MAs.

acima de 100 mg kg⁻¹, a colonização diminui e as plantas sem micorrizas aumentam seu crescimento em resposta a P, diminuindo, assim, os efeitos da inoculação. Isso confirma que esse efeito é nutricional devido à maior absorção de P. Em níveis elevados de P, a colonização é inibida e os benefícios da micorriza para a planta reduzem progressivamente. Quando a planta estiver bem suprida, não dependerá da absorção micotrófica (via fungo) e a presença do fungo na raiz torna-se um investimento energético supérfluo ou sem retorno, por isso a planta tem mecanismos de controle da simbiose. Existem fortes evidências de que a planta regule a colonização de acordo com sua necessidade através de um balanço delicado existente entre nível de P no solo, desenvolvimento e atividade do fungo na raiz (grau de colonização) e resposta da planta. Esse processo varia de efeito micotrófico em níveis subótimos de P para a planta a efeitos negativos em condições supraótimas de P no solo (Figura 10.24). Em condições de alto P, mesmo com a colonização reduzida, o fungo ainda é capaz de representar dreno significativo de fotoassimilados, causando depressão no crescimento do hospedeiro, o que geralmente é temporário. O aumento nos teores de P na planta constitui o mecanismo primário de resposta das plantas em solos de baixa fertilidade, como os dominantes nos trópicos. Isso é confirmado, por exemplo, na soja, onde a efetividade simbiótica de populações indígenas de fungos de solo de cerrado correlaciona-se positivamente com aumentos na percentagem de P na parte aérea da planta, como exemplificado para a soja (Figura 10.25). Esses resultados indicam que a eficiência simbiótica dos FMAs depende de sua capacidade em promover a absorção de P pela planta. Verifica-se que populações de fungos mais eficientes duplicam os teores de P na planta.

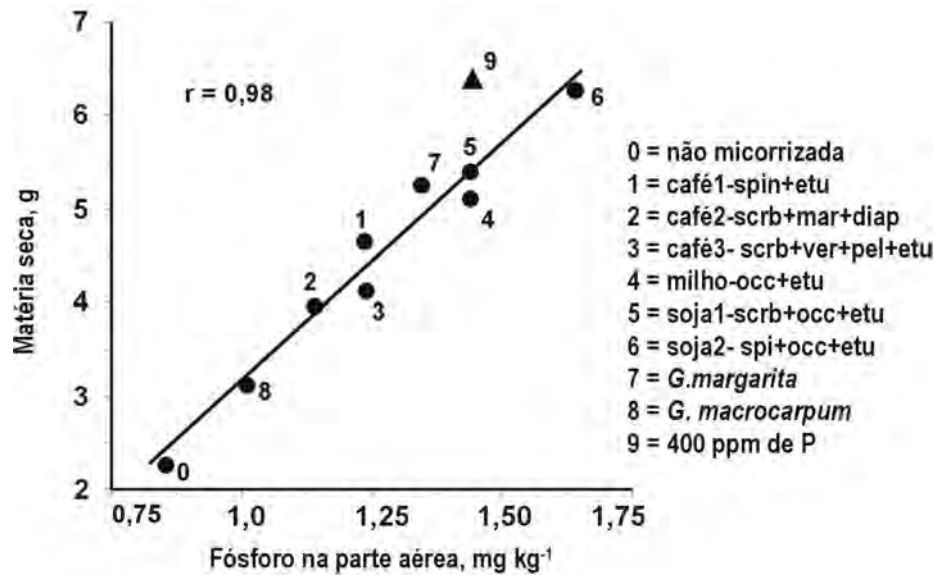


Figura 10.25. Relação entre o teor de P e a matéria seca da soja adubada com P (400 mg kg⁻¹) não inoculada ou inoculada com fungos MAs de origens diferentes. spin – *A. spinosa*; etu – *G. etunicatum*; scrb – *A. scrobiculata*; mar – *G. margarita*; diap – *G. diaphanum*; ver – *S. verrugosa*; pel – *S. pellucida*; occ – *P. occultum*.

Para que as plantas se beneficiem das micorrizas é essencial que estejam colonizadas por fungos eficientes, mas a relação entre o grau de colonização das raízes e os benefícios ao hospedeiro nem sempre é observada. A colonização é uma resposta fenotípica da relação, enquanto a resposta do hospedeiro a ela é fisiológica e muito mais complexa.

Os mecanismos da melhoria nutricional

O favorecimento das MAs na absorção de nutrientes é muito complexo, podendo ocorrer por diversos mecanismos físicos, químicos e microbiológicos, como listados a seguir:

- aumento da superfície de absorção e exploração do solo (efeito físico);
- aumento na capacidade de absorção da raiz (efeito fisiológico);
- modificações morfológicas e fisiológicas adicionais na planta;
- modificações espaciais e temporais nas raízes micorrizadas em relação às sem micorrizas;
- absorção de nutrientes disponíveis, não acessíveis às raízes não micorrizadas diretamente pelas hifas ou, indiretamente, através de favorecimento no desenvolvimento das raízes absorventes;

f) utilização de formas não disponíveis para as raízes não micorrizadas através da solubilização e mineralização e de modificações na dinâmica do equilíbrio do nutriente, entre a fase sólida e líquida do solo, no caso das MAs;

g) armazenagem temporária de nutrientes na biomassa fúngica ou nas raízes, evitando sua imobilização química ou biológica e lixiviação;

h) favorecimento de microrganismos mineralizadores e solubilizadores de nutrientes e diazotróficos na micorrizosfera;

i) favorecimento na nodulação e fixação de N_2 em leguminosas;

j) amenização dos efeitos adversos do pH, Al, Mn, metais pesados, salinidade, estresse hídrico, pesticidas, poluentes orgânicos e ataque de patógenos do sistema radicular sobre a absorção de nutrientes.

Nas raízes micorrizadas, hifas e micélio externo crescem solo adentro e aumentam a área de exploração do solo e permitem a absorção de nutrientes fora da zona de esgotamento que surge ao redor das raízes em função da maior absorção de nutrientes (Figura 7.27). A exploração de microssítios ricos em nutrientes, inexplorados pelas raízes não micorrizadas, também ocorre e contribui para maior eficiência no aproveitamento dos nutrientes. O fluxo de P via fungo é a base de funcionamento dessa simbiose, conforme a **figura 10.26**. P é absorvido da solução do solo pelas hifas por um processo ativo, transformando em grânulos de polifosfato transportados por corrente citoplasmática até os arbúsculos. Nestas, são hidrolisados pelas fosfatases, liberando P_i , que é transferido passivamente para o hospedeiro, e daí, translocado via xilema para as folhas onde atua na fotossíntese que tem relação direta com a colonização. No sentido oposto, ocorre o fluxo de fotoassimilados que sustenta o crescimento e a atividade metabólica do fungo na raiz e no solo, garantindo, assim, o funcionamento da relação micotrófica (Schwab et al., 1991). Vários estudos recentes têm focado a importância de transportadores específicos de fosfato (proteínas) como mecanismos envolvidos na aquisição desse nutriente pelas plantas. Vários transportadores de fosfato de alta afinidade foram identificados nas hifas externas, no espaço periarbuscular e na membrana da planta (Figura 10.26), e alguns deles, como aqueles codificados pelos genes *GvPPT*, *StPPT₃*, *MtPPT₄* e *OsPPT₁₁*, são expressos apenas ou com maior intensidade no fungo ou em raízes colonizadas e têm a expressão regulada pelas condições de fornecimento de P (Smith & Barker, 2002). A expressão de *MtPPT₄* é máxima em células contendo arbúsculos, nas quais o influxo de P tem taxa cerca de 1.000 vezes maior do que em células fúngicas expressando esse gene em cultura (Harrison et al., 2002), o que indica seu envolvimento na aquisição de P liberado nos arbúsculos. Partindo do genoma do arroz, pesquisadores verificaram que o gene transportador *OsPPT₁₁* foi induzido especificamente pela colonização (arbúsculos) por *Glomus intraradices* e não por fungos patogênicos (Paszkowski et al., 2002). Há evidências, portanto, de que genes para proteínas transportadoras de alta afinidade para P são induzidos pela micorrização. Vários desses genes podem ser clonados para expressar em plantas visando aumentar a capacidade destas em adquirir P do solo. A superexpressão de gene transportador de fosfato de alta afinidade (*PHT₁*) em células de fumo aumentou a absorção de P cerca de três vezes em relação a células não transgênicas.

A contribuição das MAs na absorção de nutrientes tem sido estimada até em 80% de P, 60% de Cu, 25% de N, 25% de Zn e 10% de K da planta (Marschner & Dell, 1994), sendo portanto, maior nos nu-

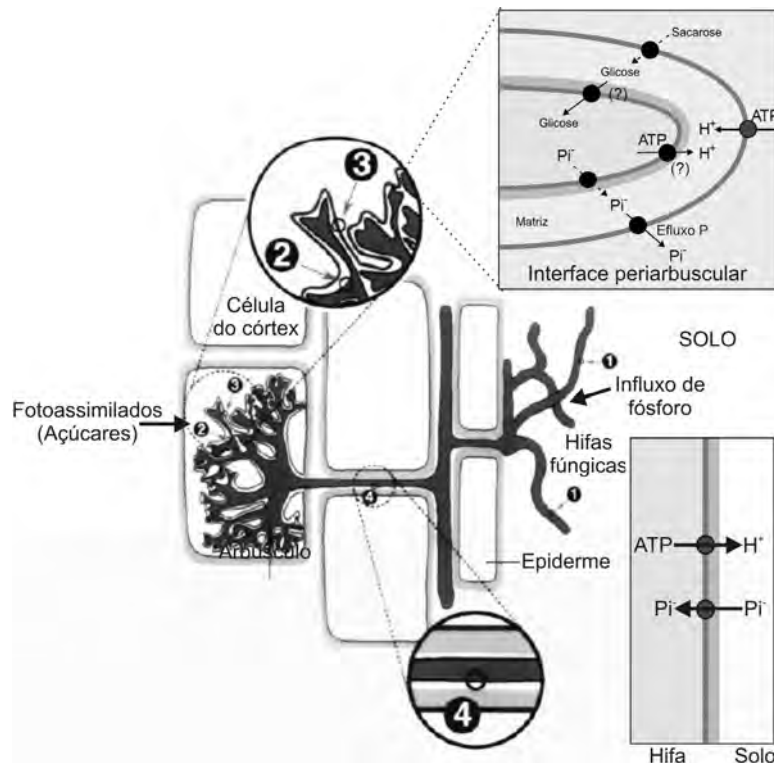


Figura 10.26. Mecanismos de absorção e transferência de fósforo e carboidratos em raízes micorrizadas, mostrando transportadores e ATPases nas membranas. 1 – absorção de P através da membrana em hifas externas; 2 – efluxo de P através da membrana do arbusculo; 3 – absorção de P através da membrana periarbuscular; 2 e 4 – possíveis sítios de absorção de glicose pelo fungo. (Modificado de Harrinson, 1999; Hahn & Mendgen, 2001.)

trientes que apresentam difusão reduzida no solo. Apesar de ocorrer as alterações fisiológicas na planta que podem interferir na absorção de nutrientes do solo, a absorção é feita principalmente pelo micélio externo (efeito físico), que aumenta a área de absorção e a exploração do solo (Figura 10.12). O'Keefe & Sylvia (1991), usando modelos de absorção e considerando diâmetro médio de 8 μm e 250 μm para hifas e raízes respectivamente estimaram que o aumento da área de superfície devido às MAs pode atingir 1.800% e que o influxo de P pode ser elevado em 477%, para um aumento de apenas 3% na área de superfície. Esses valores, embora estimados, indicam a magnitude do potencial de efeitos nutricionais das MAs. Por isso, a quantidade de hifa ou micélio extra-radicular pode-se correlacionar com efetividade simbiótica do fungo. Essa é bastante variável, mas pode alcançar até 32 cm de hifa cm^{-1} de raiz colonizada ou 26 m de hifa g^{-1} de solo conforme relatado na literatura. As hifas têm elevada capacidade de absorção e eficiência, pois possuem taxa de extensão 823 vezes maior que a das raízes, representando um acessório eficiente para o órgão de absorção das plantas, as raízes. O micélio extra-radicular pode ser inibido por alto P e por metais pesados, sendo também consu-

mido por colêmbolas e inativado por biocidas como o benomyl. A quantidade de hifa ativa no solo é uma característica de grande importância funcional nas micorrizas, pois além de atuar na absorção de água e nutrientes, são importantes agentes agregantes de solo.

O influxo de nutrientes na planta é resultante da interação entre os fatores do solo e das raízes absorventes, processo que conta com a participação ativa das MAs. Quando plantas micorrizadas são tratadas com biocidas, que matam as hifas como alguns fungicidas específicos, o influxo de P na planta é reduzido drasticamente, evidenciando a importância do fungo para a aquisição de P, pois esse efeito é reduzido em condições de elevado P na solução do solo, situação em que a planta independe do micotrofismo. Kunishi et al. (1989) demonstraram que a fumigação do solo reduziu a absorção de P pelo milho em mais de 60% e a produtividade de grãos em cerca de 80% quando não se aplicou P ao solo. No entanto, a queda de produtividade foi de apenas 15% quando 18 kg ha⁻¹ de P foram aplicados no plantio. O influxo de P na planta (*I*) pode ser sumariamente descrito pela equação:

$$I = I_{m\acute{a}x} \frac{C}{K_m + C}$$

em que: $I_{m\acute{a}x}$ é a taxa máxima de *I*; *C*, a concentração na superfície da raiz, e K_m a constante de Michaelis–Menten. Verifica-se que *I* depende da concentração do elemento (P) na superfície da raiz, a qual é controlada pela difusão do nutriente no solo até a superfície absorvente. Como a difusão é função do gradiente de concentração (ΔC), tem-se que:

$$\Delta C = \frac{[P_{\text{solo}}] - [P_{\text{raiz}}]}{\Delta X}$$

sendo $[P_{\text{solo}}]$ e $[P_{\text{raiz}}]$ as concentrações de P no solo e na superfície da raiz respectivamente, e ΔX a distância de P até a superfície de absorção (difusão necessária). Partindo desses modelos conceituais supersimplificados, tem-se que o influxo de P nas plantas em solos de baixa fertilidade pode ser aumentado se:

- a) aumentar P na solução do solo que eleva $[P_{\text{solo}}]$ e aumentar ΔC e *C*, o que é possível pela adição de fertilizantes solúveis ao solo (procedimento tradicional);
- b) diminuir o ΔX que aumenta ΔC e, conseqüentemente, a difusão e o influxo. Isto pode ser conseguido através da seleção de genótipos e manejo do solo para maior produção de raízes e através das MAs que aumentam a eficiência de absorção em termos espaciais e temporais;
- c) promover alterações fisiológicas na absorção como redução do K_m (constante que mede a afinidade das raízes com P da solução). Plantas micorrizadas têm demonstrado apresentar menores valores de K_m de P que aquelas sem micorrizas; portanto, têm maior afinidade e maior capacidade de absorver esse elemento.

Os estudos realizados na década de 70 com ³²P indicavam que plantas micorrizadas tinham acesso às mesmas formas de P no solo que aquelas sem MAs e que as plantas com MAs eram capazes de ex-

plorar de modo mais eficiente o P do solo. De fato, a maior exploração física do solo e a maior capacidade absorptiva das raízes são os principais mecanismos da maior absorção de P. No entanto, sabe-se hoje que as MAs são capazes de mobilizar P do solo através de modificações químicas na rizosfera, como maior mineralização de P orgânico e mobilização de formas inorgânicas por mecanismos diversos. Estudos desenvolvidos na UFLA na década de 80 demonstraram que a *Brachiaria decumbens* e o *Stylosanthes* sp. são capazes de absorver maior quantidade de P fixado ou retido no solo, quando eram micorrizados. Do mesmo modo, na ESALQ-USP, em Piracicaba (SP), demonstrou-se que as MAs aumentam a eficiência de uso de fosfatos naturais.

A capacidade das MAs de mobilizar fosfatos do solo reveste-se de grande interesse para a produção agrícola nos trópicos, cujos solos apresentam elevada capacidade de retenção desse nutriente. Os mecanismos pelos quais as raízes micorrizadas mobilizam mais fosfatos têm sido bastante estudados, envolvendo:

- a) produção de ácidos orgânicos específicos eficazes na solubilização ou alteração da dinâmica do equilíbrio das formas de P no solo;
- b) elevação dos teores de CO₂ na rizosfera pela maior atividade heterotrófica da micorriza comparada com raízes não colonizadas;
- c) produção de quelantes e complexantes capazes de mobilizar principalmente P ligado a ferro (ex.: ácido psídico em leguminosas é eficiente em complexar Fe, liberando fosfato);
- d) maior população de microrganismos solubilizadores e mineralizadores de fosfatos na rizosfera.

As MAs exercem enorme influência no requerimento externo e no déficit de P das plantas, sendo isso relacionado à dependência da planta e à eficiência do fungo. Como mostra a figura 10.22, por exemplo, as MAs exercem maior efeito no estilósante que na braquiária, que cresce bem mesmo em baixo P e sem micorriza, por apresentar menor requerimento e menor déficit de P. Por isso, pode-se admitir que as MAs beneficiam as plantas através da redução do déficit de P, de modo que quanto maior a demanda desse elemento, maior o déficit e benefício da micorrização à planta e menor a eficiência de utilização de P desta planta na ausência de micorriza. Estudos realizados na UFLA mostraram o efeito equivalente da inoculação de 20, 30, 60, 120 e 200 kg de P ha⁻¹ para a braquiária, milho, soja, cafeeiro e estilósantes, respectivamente. Essas plantas apresentam eficiência decrescente de utilização de P do solo e benefícios crescentes das MAs. Em outros experimentos, mostrou-se que a inoculação com *Glomus macrocarpum* reduz o requerimento externo de P em 34% e 56% para milho e soja respectivamente. A avaliação do requerimento externo de P para algumas espécies com elevada dependência, como mandioca, estilósante e citros, pode ser superestimada até em cem vezes se realizada na ausência de MAs. Isso é de grande importância para o manejo da fertilidade em solos tropicais. Assim o aumento na absorção de P é o mecanismo primário de benefício das micorrizas, exercendo a maior absorção desse nutriente inúmeros efeitos secundários que podem ser nutricionais, favorecendo a absorção de outros nutrientes, ou fisiológicos na planta como, por exemplo, nas relações hídricas.

A absorção de outros nutrientes é também influenciada pelas MAs e pode estar envolvida nas respostas em crescimento. As MAs favorecem a absorção de micronutrientes que apresentam baixa mobilidade

no solo, como é o caso de Zn e Cu que, no milho, as MAs são responsáveis pela absorção de 16% a 25% de Zn e 52% a 62% de Cu (Li et al., 1991). As MAs podem também aliviar os efeitos de deficiência desses nutrientes induzidas por altos níveis de P. Em contraste, os teores de Mn são geralmente menores em plantas micorrizadas, e isso parece ser devido a efeitos indiretos resultantes de alterações microbiológicas induzidas na rizosfera, como a diminuição na população de bactérias redutoras de Mn, causando diminuição na sua disponibilidade que, geralmente, ocorre em excesso. A relação micorriza-Mn e os mecanismos envolvidos são objeto de estudo há vários anos pela Dra. Elke Cardoso e seus colaboradores em Piracicaba (SP). Esses resultados se revestem de grande interesse para a agricultura em solos minerais ácidos, onde Mn e outros metais apresentam elevada disponibilidade, interferindo no crescimento das plantas e em outros processos, como nodulação por rizóbio.

As MAs também interferem direta ou indiretamente na aquisição de N pelas plantas. Como demonstrado por Hodge et al. (2001), hifas fúngicas são capazes de absorver N nas formas orgânica e inorgânica, transferindo-as para a planta. Em algumas espécies arbóreas, as mudas só respondem a N-mineral quando micorrizadas, fato também observado para plantas obtidas por micropropagação, como a batata-doce. Não há evidências de alterações na rota metabólica de N na planta, mas plantas micorrizadas apresentam maior assimilação de NH_4^+ , produção de glutamina e translocação de N via xilema. Se os efeitos das MAs na absorção de N pelas plantas forem tão generalizados quanto aqueles verificados para P, o papel das MAs na funcionalidade do ecossistema será maior do que o que se considera atualmente, tendo em vista a deficiência generalizada do nutriente. Também, através de mecanismos indiretos, as MAs favorecem a aquisição de N_2 atmosférico nas plantas nodulíferas. As leguminosas noduladas geralmente apresentam alta demanda de P, oferecendo oportunidade para a contribuição das MAs em sinergismo com rizóbio. A maior absorção de P, além de interferir diretamente no processo de fixação de N_2 , aumenta a produção de raízes e a fotossíntese, o que eleva a nodulação e a fixação de N_2 atmosférico nas plantas micorrizadas. Também o fluxo mais constante de P nos nódulos favorece os mecanismos energéticos e bioquímicos da fixação. A relação rizóbio-MA é de grande interesse na agricultura tropical, onde os solos são extremamente deficientes nesses nutrientes. Isso foi revelado em estudos pioneiros da Dra. Bárbara Mosse com solos do cerrado de Brasília na década de 60, quando essa pesquisadora observou que algumas leguminosas forrageiras nem mesmo nodulam em tais solos na ausência de MAs. Em solo de cerrado, com a aplicação de $120 \text{ kg de P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$, a inoculação com *Glomus macrocarpum* dobrou a quantidade de N acumulada na parte aérea da soja. Outros efeitos nutricionais das MAs, como a maior absorção de K e de micronutrientes e alterações na relação água-planta, podem também favorecer a nodulação e a fixação simbiótica de N_2 nas leguminosas (Herrera et al., 1993; Siqueira & Franco, 1988).

A transferência de nutrientes entre as raízes da mesma planta ou entre plantas, mediadas pelas hifas fúngicas que atuam como canais de ligação, também ocorre freqüentemente e tem despertado muita atenção em pesquisas com enfoque na funcionalidade dos ecossistemas e nos agrossistemas consorciados, como, por exemplo, naqueles envolvendo gramíneas e leguminosas fixadoras. Sabe-se que a introdução de leguminosas fixadoras no consórcio confere maior sustentabilidade ao ecossistema, por aumentar o aporte de N. A presença das interconexões de hifa contribui para maximizar a transferência de N e de outros nutrientes entre as culturas consorciadas, melhorando o balanço com-

petitivo entre as espécies. Em um consórcio sorgo-soja em solo de cerrado, a produção do sorgo aumentou 67% na ausência de micorriza e 157% quando os FMAs estavam presentes no consórcio, conforme Bressan (1996). Segundo esse autor, a presença do fungo favoreceu a transferência de N da soja para o sorgo e, assim, contribuiu para sua maior produção. Outro aspecto também já estudado é o envolvimento das MAs na revegetação com arbóreas nativas em co-semeadura direta. A presença de MAs garante o crescimento mais equilibrado entre as espécies semeadas em solo com baixo P, contribuindo para reduzir a dominância de espécies na fase de crescimento inicial das plantas. Esse resultado está em consonância com os efeitos dos FMAs na competitividade das espécies e estruturação das comunidades vegetais.

Efeitos não nutricionais

10.3.9. Alterações fisiológicas na planta

Os principais efeitos não nutricionais das MAs sobre o hospedeiro (Tabela 10.18) incluem o favorecimento da relação água-planta, o efeito mais importante das MAs para as plantas depois dos benefícios nutricionais. A colonização aumenta a resistência das plantas à seca, o que é geralmente atribuído à melhoria do estado nutricional. Entretanto, outros efeitos resultantes da colonização podem favorecer a relação água-planta, como apresentados a seguir:

- a) alterações na elasticidade das folhas em plantas micorrizadas;
- b) potencial de água e turgor das folhas mais elevados em plantas micorrizadas;
- c) maior taxa de transpiração e abertura estomatal em folhas de plantas micorrizadas;
- d) alterações nas raízes em comprimento e profundidade e características de absorção.

Em casa de vegetação na UFLA, verificou-se que plantas de soja micorrizadas sob estresse hídrico no solo resistiram mais ao déficit hídrico e recuperam o turgor mais rapidamente quando o nível adequado de água do solo foi restabelecido. Quando essas plantas cresceram em Latossolo Roxo com alto nível de umidade (100% do volume total de poros preenchidos com água), mostraram sintomas foliares típicos de toxicidade de Mn, os quais foram também ausentes em plantas micorrizadas. Em estudo em campo na Flórida (EUA), Sylvia & Williams (1992) verificaram que o milho inoculado com *G. etunicatum* mostrou-se mais tolerante ao estresse hídrico que sem inoculação. Como as MAs são mais ativas em condições subótimas de nutrição, existe uma interação muito forte entre o estado nutricional-micorrização-tolerância ao estresse hídrico, o que, sem dúvida, é de grande importância para a agricultura tropical. Outros aspectos fisiológicos das MAs na relação água-planta são abordados em Nelsen (1987) e Sylvia & Williams (1992).

As plantas micorrizadas exibem também alterações metabólicas e fisiológicas diversas. Várias auxinas, citocininas, giberelinas, vitaminas e compostos orgânicos bioativos acumulam-se em maior quantidade em plantas micorrizadas. Especialistas consideram que a maioria das alterações fisiológicas resul-

ta dos benefícios nutricionais, mas as alterações nas substâncias reguladoras do crescimento podem ser controladas diretamente pela simbiose, considerando-as necessárias para o funcionamento (fluxo de metabólitos) da associação. As MAs podem causar alterações no metabolismo das plantas como:

- a) aumento do número de várias organelas celulares;
- b) aumento da atividade de diversas enzimas;
- c) aumento da abertura estomatal;
- d) aumento da taxa de respiração e absorção de CO_2 (até em 20%), favorecendo a fotossíntese;
- e) aumento e alteração da exsudação radicular;
- f) redução do conteúdo de amido (até em 50%);
- g) estreitamento da relação C:P e N:P;
- h) alteração na composição de aminoácidos;
- i) acúmulo de ácidos graxos pouco comuns, como o 16:1 (11c) pinitol e outros metabólitos.

Essas alterações são bem documentadas e interferem em outros processos do desenvolvimento e da nutrição das plantas e na biota associada a elas. Isto pode promover alterações fenológicas, como floração e relação com fitopredadores. Plantas micorrizadas florescem mais e flores de corte oriundas de plantas micorrizadas têm maior duração, pois têm a senescência retardada, devido a alterações bioquímicas na planta.

Tolerância a estresses bióticos

A redução dos malefícios causados pelos fatores bióticos é também um benefício comum das MAs. Os FMAs não atuam como agentes de biocontrole típico nas raízes, mas amenizam os efeitos ou danos causados pelos nematóides, fungos patogênicos do sistema radicular e algumas pragas. As MAs reduzem a incidência de doenças na maioria dos casos conhecidos, mas podem aumentar em algumas situações, como para certos patógenos foliares (vírus). No caso dos nematóides, a interação com os FMAs pode resultar em aumento, redução ou ter nenhum efeito sobre o ataque da planta, mas existem evidências de maior resistência de plantas micorrizadas e redução na reprodução dos nematóides em várias culturas, como no algodoeiro e no pessegueiro. Os efeitos dos FMAs na proteção contra patógenos dependem de qual organismo se estabelece primeiro nas raízes e de qual grau de estabelecimento nelas. Aquele que ocupar o nicho primeiro, geralmente tem vantagem competitiva e, portanto, a colonização micorrízica precoce das plantas jovens pode garantir sua proteção aos patógenos de solo. A interação MA-patógenos pode também estar envolvida no declínio das monoculturas, que geralmente se manifesta como deficiências nutricionais e ataque de patógenos radiculares. Os estudos conduzidos com aspargo nos EUA, já comentados neste capítulo, são evidências dessas relações envolvendo, inclusive, a ação de aleloquímicos sobre os FMAs. Esses compostos reduzem a micorrização do aspargo, tendo reflexos negativos no vigor e na sanidade da cultura.

A interação micorrizas com pragas é ainda pouco explorada, mas existem evidências de que larvas de *Heliothis zea* e *Spodoptera frugiperda* têm crescimento e pupação reduzidos quando alimen-

tadas com folhas de milho de plantas micorrizadas. Isso parece ser devido ao acúmulo de substâncias tóxicas ou com ação repelente, como compostos aromáticos nas plantas micorrizadas. Tais resultados abrem novas perspectivas para as MAs no contexto da produtividade agrícola nos trópicos e precisam ser mais bem avaliados no Brasil. Como comentado, alguns pesticidas podem interferir na micorrização, como é o caso de carboxin, captan e fungicidas sistêmicos. Eles podem controlar o agente-alvo na cultura, mas também reduzir a micorrização e tornar a cultura mais exigente em nutrientes e mais suscetível ao déficit temporário de água. Nesse caso, o pesticida controlaria a doença, mas isso não resulta em aumento na produtividade porque as plantas ficam subnutridas devido à falta de contribuição da simbiose para a absorção de nutrientes, ocasionada pelo rompimento da relação micotrófica da cultura.

Tolerância a estresses abióticos

As MAs podem também atuar como amenizadoras de estresses abióticos diversos, como elevada acidez, metais pesados, estresse osmótico e produtos químicos fitotóxicos. Algumas gramíneas, como *Brachiaria decumbens* e *Panicum virgatum*, crescem melhor e absorvem menos Al e mais Ca e P, quando micorrizadas. As MAs podem aumentar a absorção de metais pesados, mas geralmente protegem as plantas da toxicidade desses elementos quando em condições moderadas. A necessidade de conhecer os mecanismos responsáveis pelos impactos ambientais e de viabilizar tecnologias para recuperação de solos contaminados por agentes químicos via fitorremediação tem despertado recentemente grande interesse sobre as micorrizas nessas condições. Ao mesmo tempo em que os agentes poluentes impactam os processos do solo como as simbioses radiculares com consequências para a vegetação, plantas micorrizadas são mais tolerantes aos estresses causados pelo excesso de metais no solo (Christie et al., 2004; Klauberg Filho et al., 2005). Isso favorece o crescimento das plantas nas condições de estresse e, assim, pode facilitar o estabelecimento dessas em áreas contaminadas contribuindo para sua fitoestabilização.

Avaliando o comportamento de mudas de espécies arbóreas com e sem micorrizas transplantadas para solo contaminado com metais pesados, verificou-se um efeito protetor das MAs em condições amenas de contaminação do solo com metais pesados. A aplicação de isoflavonóide estimulante da micorrização reduziu o impacto causado pela fitotoxicidade de metais pesados para o milho em solo com excesso desses elementos. Siqueira et al. (1999) verificaram que a maior colonização reduziu a absorção de Zn e aumentou os teores foliares de Fe, cuja absorção é inibida pelo excesso de Zn, causando deficiência induzida de Fe. O favorecimento na absorção de Fe pela micorrização constitui, segundo os autores, um mecanismo de proteção do milho ao excesso de Zn no solo. Em situação de elevada fitotoxicidade, a colonização é inibida e seu efeito protetor para a planta, desprezível. Um dos problemas é o forte efeito inibitório dos metais na colonização que é mais sensível aos metais tóxicos que o crescimento da planta. No entanto já são conhecidos, isolados fúngicos tolerantes aos metais pesados (Klauberg Filho et al., 2005), e isso oferece oportunidades para sua introdução na revegetação de áreas contaminadas. Os principais estudos sobre interações FMAs-metals e aplicação em fitor-

remediação envolvem Cd, Cu, Ni, Pb e Zn, mais de 20 espécies de FMAs e plantas micorrízicas consideradas tolerantes aos metais (Gaur & Adholeya, 2004).

Os mecanismos pelos quais as MAs garantem proteção às plantas estão apenas recentemente sendo objeto de estudos mais acurados. Há evidências que sugerem a existência de mecanismos fisiológicos de proteção induzidos pelas MAs. Segundo Repetto et al (2003), os FMAs modulam a expressão de proteínas envolvidas nas respostas das plantas a Cd, existindo proteínas que são suprimidas e outras superexpressadas na planta, conferindo-lhe certa proteção ao elemento. Outros mecanismos de proteção envolvem:

- a) favorecimento do crescimento e produção de fitomassa que causa diluição dos metais tóxicos nos tecidos;
- b) absorção diferenciada de nutrientes, como, por exemplo, P e Fe e metais em comparação à plantas não micorrizadas. Esses nutrientes podem reduzir os efeitos tóxicos do metal na planta;
- c) atividade reguladora na absorção dos metais, tendo efeito diferenciado em condições de alta ou baixa biodisponibilidade dos metais;
- d) mecanismos de exclusão ou seletividade na absorção envolvendo interações específicas dos metais com os tecidos fúngicos como retenção, precipitação e biossorção;
- e) envolvimento de interações iônicas e moleculares específicas via glomalina, por exemplo, que possui elevada capacidade de reter os metais;
- f) barreiras à translocação no micélio e nas raízes favorecendo a imobilização e causando translocação mais lenta em plantas micorrizadas;
- g) compartimentalização e distribuição diferenciada nos órgãos ou tecidos da planta e do fungo;
- h) alterações químicas na rizosfera como oxidação/redução bacteriana que interferem na disponibilidade e no padrão de absorção dos metais e nutrientes.

Embora as MAs confirmem maior capacidade absorptiva às raízes, incluindo metais nutrientes e não nutrientes, esses efeitos dependem da concentração do metal no solo. Em condições de excesso de metais, as micorrizas podem reduzir a absorção ou a translocação das raízes/micorrizas para a parte aérea e, assim, amenizar os efeitos fitotóxicos. Um estudo com trevo mostrou que a colonização com *G. mosseae* causou redução nos teores de Zn na parte aérea em concentração de Zn acima de 50 mg kg⁻¹ de solo. Andrade et al. (2004) verificaram que a absorção de Pb foi 30% menor pela soja micorrizada em relação às plantas sem micorrizas, em solo que recebeu 600 mg dm⁻³ de Pb. Os FMAs, além de formar grânulos de polifosfato que podem precipitar os metais, possuem elevada capacidade de sua sorção em seus tecidos. Isso pode atingir, para Zn, 16 mg g⁻¹ de micélio, o que resulta em acúmulo de quantidade elevada do elemento até 1.200 mg kg⁻¹, correspondendo a cerca de dez vezes maior que o encontrado normalmente em raízes. Esses resultados são coerentes com estudos atuais sobre a função da glomalina, uma substância do tipo proteína encontrada nos FMAs, a qual é capaz de seqüestrar elementos tóxicos. González-Chavez et al. (2002) verificaram elevada capacidade de sorção de metais pelos FMAs, variando com o isolado ou a espécie. A capacidade de sorção de Cu em mg kg⁻¹ de micélio foi de 13,3 para *G. mosseae* e *G. claroideum* e apenas de 2,8 para *G. caledonicum*. O metal acumula-se na mucilagem externa e nas paredes celulares do fungo. González-Chaves et al. (2004) relatam

que a glomalina extraída de solo contaminado continha por grama: 1,6 a 4,3 mg de Cu; 0,08 mg de Cd e de 0,62 a 1,12 mg de Pb. Hifas de *G. rosea* são capazes de seqüestrar Cu na taxa de 28 mg g⁻¹ de hifa e *G. mosseae* adsorve Cd na quantidade de 35 mg g⁻¹ de biomassa fúngica. Portanto, essa proteína, específica dos FMAs, pode desempenhar importante função na remediação de solos poluídos com metais pesados.

Os FMAs podem também aliviar os efeitos fitotóxicos de doses subletais de fitotoxinas diversas como aleloquímicos e resíduos de herbicidas. A aplicação do isoflavonóide formononetina, em solo agrícola sem desinfestação contendo propágulos viáveis de fungos MAs indígenas e 13 ppb residual do herbicida Scepter (imazaquin), reduziu a fitotoxicidade do herbicida para milho e sorgo. Esses efeitos não foram observados quando o solo foi autoclavado para eliminar os propágulos dos FMAs. Nesse caso, a formononetina estimulou a micorrização e protegeu as plantas da fitotoxicidade do herbicida, atuando como um agente protetor contra os herbicidas (Siqueira et al., 1991a). Esse tipo de proteção é interessante não apenas em solos agrícolas, mas também em áreas com solos contaminados que precisam ser remediados, em especial quando se pretende introduzir plantas que aceleram o processo de descontaminação do solo, processo conhecido por fitorremediação. Em solos de área onde se pratica a biorremediação por “landfarming” de resíduos da indústria petroquímica, verificou-se que a inoculação de *Glomus clarum* e *Paraglomus occultum* favoreceu o crescimento de alfafa, braquiária e sorgo, destacando-se um aumento na produção de massa da alfafa em torno de 78% devido à inoculação (Paula et al., 2006).

10.3.10. Efeitos na agregação do solo

As hifas dos FMAs e as raízes finas desempenham funções importantes na agregação e estabilidade dos agregados por meio do envolvimento das partículas do solo. Dentro e em volta dos agregados, as hifas e as raízes finas formam uma rede biológica que entrelaça e mantém juntas as partículas do solo conforme ilustrado na **figura 10.27**. A quantidade de hifa atinge até 50 m de hifa por grama de agregado, contribuindo, assim, de modo significativo para sua estabilização. Estudos realizados na Austrália mostram relações muito estreitas entre o cultivo do solo e o comprimento total de hifas e a proporção de agregados estáveis (**Figura 10.28**). Os solos cultivados ou em pousio continham menos de 5 m hifa g⁻¹ de solo e menos de 5% de agregados estáveis, enquanto, no solo virgem, havia em torno de 17 m de hifa e 24% de agregados estáveis.

Outro mecanismo pelo qual os FMAs podem contribuir para a agregação do solo é via deposição de material orgânico (Rillig, 2004). Um importante componente contido ou liberado pelas hifas dos FMAs são proteínas denominadas coletivamente glomalinas, imunoreativas a anticorpos de esporos de *G. intraradices*. As glomalinas são produzidas em grande quantidade pelos FMAs e que, por ser recalcitrantes, acumulam nos agregados do solo em quantidades que variam de 4,4 a 14,6 µg mg⁻¹ de solo (Wright et al., 1996). Essa quantidade varia para as diferentes espécies de FMAs de 6,3 µg mg⁻¹ de hifa para *G. gigantea* a 60 µg mg⁻¹ em *Gigaspora/Scutellospora rosea*, indicando, por exemplo, diferentes efeitos agregantes das espécies fúngicas. A glomalina contém cerca de 60% de carboidratos, possui N ligado ao oligossacarídeo, contém Fe, é insolúvel em água e apresenta alta hidrofobicidade, que

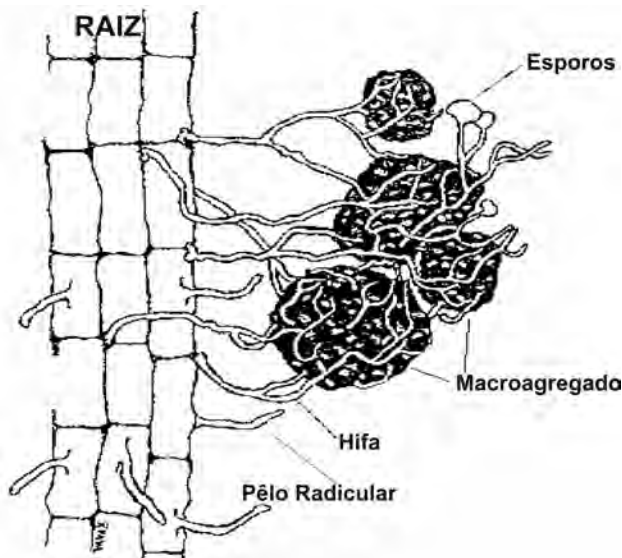


Figura 10.27. Representação esquemática da ação de hifas fúngicas e raízes finas na agregação do solo. (Miller & Jastrow, 1992; Tisdall & Oades, 1982.)

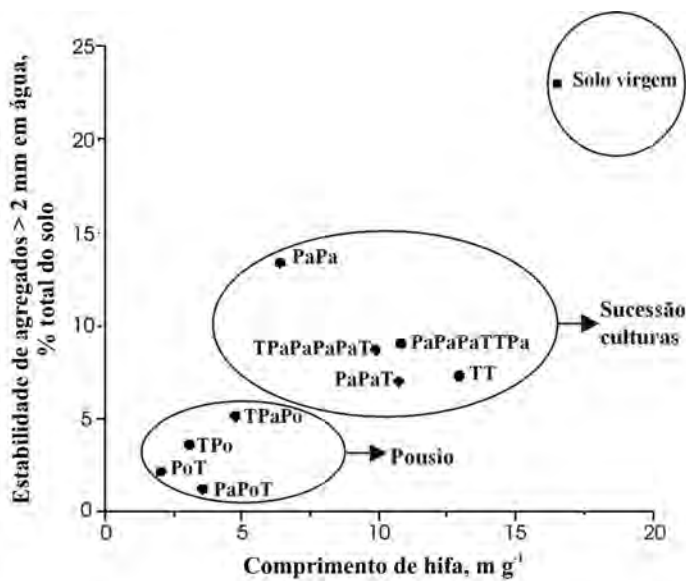


Figura 10.28. Relação entre o comprimento de hifa e a porcentagem de estabilidade de agregados para um solo sob diferentes rotações de cultura na Austrália (PaPa = somente pastagem antiga; PaPaT = pastagem-pastagem-trigo; TT = somente trigo; TPaPo = trigo-pastagem-pousio; PaPoT = pastagem-pousio-trigo; TPo = trigo-pousio; PoT = pousio-trigo; TPaPaPaPaT e PaPaPaTTPa = 2 anos, trigo e 4 anos, pastagem). (Tisdall & Oades, 1980.)

pode contribuir para iniciar a agregação. A quantidade de glomalina imunorreativa extraível do solo apresenta alta correlação com a estabilidade dos agregados de solos de várias regiões do mundo conforme mostra a **figura 10.29**.

Ao mesmo tempo em que são estabilizados pelas MAs, os agregados se tornam importante ambiente funcional e de proteção às hifas de FMA's no solo. Esse mecanismo resulta da ação das hifas e da produção de polissacarídeos extracelulares e glicoproteínas denominadas glomalinas, que desempenham importante função na agregação do solo. Em solos degradados em recuperação, a melhoria na agregação é acompanhada pela maior quantidade de raízes finas colonizadas e hifas, que, pela ação agregante, influenciam o diâmetro médio geométrico dos agregados. Como solos bem agregados são menos afetados pela erosão e mais favoráveis ao desenvolvimento das plantas, os efeitos das MAs na agregação contribuem para produtividade e sustentabilidade agrícola e para conservação e funcionalidade dos ecossistemas naturais.

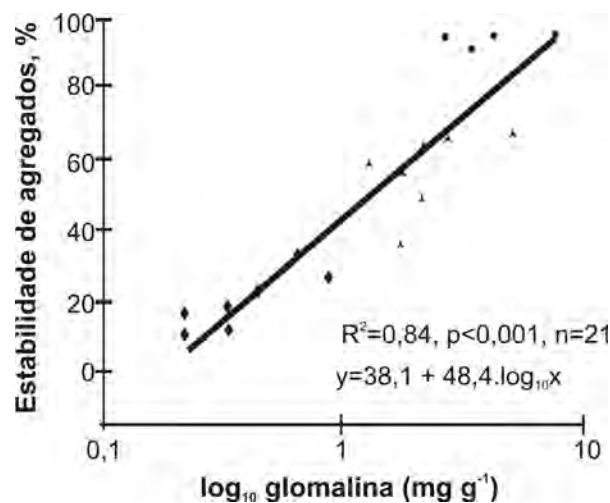


Figura 10.29. Relação entre o teor de glomalina imunorreativa extraída de solos americanos e escoceses e a estabilidade de agregados. (Wright & Upadhyaya, 1998.)

10.3.11. Aplicação das MAs

Uma das estratégias para alcançar a sustentabilidade de qualquer ecossistema é maximizar o uso dos microrganismos e processos biológicos benéficos do solo, entre os quais se destacam as MAs. Essa associação apresenta enorme potencial biotecnológico para a agricultura e qualidade ambiental, mas, para sua plena exploração, é necessário melhorar o grau de micorrização das plantas, o que pode ser conseguido através do uso de inoculantes ou manipulação da população indígena.

Na exploração dessa simbiose, diversos aspectos específicos de seus componentes têm que ser considerados como sumarizado na **tabela 10.20**. Em função dos fatores que determinam as respostas da planta e a eficiência do fungo e as condições químicas da fertilidade do solo, têm-se estratégias diferentes das quais se esperam sucessos variados. Para solos cultivados com espécies não-micotróficas (não-micorrízicas), recomenda-se a rotação com planta de elevada micotrofia para aumentar o número de propágulos no solo. Em culturas micorrizo-dependentes deve-se praticar a inoculação em solos com baixa densidade de propágulos ou fungos de pouca eficiência simbiótica, enquanto, em solos com alta densidade de fungos eficientes, deve-se manejar o sistema de modo que essa população seja mantida sem muita alteração. O grau de sucesso esperado com a inoculação pode ser alto quando se emprega isolado eficiente, em solo cuja fertilidade está abaixo da ótima para a cultura alvo. Interpretando essa tabela, têm-se as principais situações relativas ao uso e ao manejo das MAs; por exemplo: onde ou em quais situações se deve inocular ou manejar a população indígena e qual o grau de sucesso esperado com a adoção dessa técnica.

Tabela 10.20. Principais aspectos a considerar na utilização dos fungos MAs: condições do solo e da planta, estratégia recomendada e grau de sucesso esperado (Siqueira & Saggin-Júnior, 1995).

Condições (planta, solo, fungo)		Estratégia adotada	Grau de sucesso
I - Relação fungo-planta			
<i>Condição micorrízica da planta</i>		<i>Grau de dependência</i>	
Micorrízica	Altamente dependente	Inocular	Muito alto
Micorrízica	Dependente	Inocular	Alto
Não-micorrízica	Não se aplica	Rotação de cultura	Muito baixo
II - Condições químicas do solo			
<i>Fertilidade</i>		<i>Efeito da micorrização</i>	
Alta	Depressivo	Redução da adubação	Muito baixo
Média	Benéfico	Inocular	Médio
Baixa	Muito benéfico	Inocular	Muito alto
Muito baixa	Baixo/nenhum	Aubar e inocular	Alto
III - Fungos nativos no solo			
<i>Propágulos no solo</i>		<i>Eficiência</i>	
Ausentes	Não se aplica	Inocular	Muito alto
Baixa densidade	Baixa	Inocular	Alto
Baixa densidade	Alta	Manejar	Alto
Alta densidade	Baixa	Inocular	Baixo
Alta densidade	Alta	Manter	Baixo

Inoculação com fungos MAs

As MAs são pouco compatíveis e desnecessárias em sistemas de produção manejados à base de cultivo intensivo do solo e uso abusivo de agroquímicos, mas podem “*representar as raízes de uma agricultura sustentável*” em sistemas com insumos reduzidos. Em uma avaliação bem genérica, tem-se que a importância relativa e potencial das MAs para a produção agrícola cresce na seguinte ordem: agrossistemas orgânicos ou de baixo insumo > sistemas muito alterados, como áreas degradadas > sistemas manejados intensivamente, como agricultura de alto insumo. As pressões para redução no uso de agroquímicos (fertilizantes e biocidas), a adoção de sistemas de rotação de culturas e de cultivo reduzido do solo, a necessidade de melhor integração agricultura-ambiente e o desenvolvimento de tecnologias para exploração das MAs, aumentam a importância e o potencial dessa simbiose para a produção agrícola. Nos sistemas alternativos de produção, como no de insumo reduzido e na agricultura orgânica, as MAs desempenham papel agroecológico essencial. Em condições controladas de produção, como aquelas com plantas envasadas e substratos esterilizados, mudas em viveiros com substratos artificiais ou solos fumigados e em programas de recuperação de áreas degradadas, as MAs são também geralmente de grande importância para garantir o sucesso dessas atividades. No entanto, apesar do enorme potencial e do grande volume de estudos, a exploração dos fungos MAs em larga escala ainda enfrenta vários obstáculos, como:

- a) conhecimento insuficiente sobre a biologia do fungo;
- b) a falta de inoculantes padronizados e aceitos comercialmente;
- c) o mercado para essa tecnologia é muito segmentado devido à diversidade de sistemas e condições onde o uso é promissor;
- d) expectativas irreais por diversos segmentos onde tecnologias biológicas como essa podem ser exploradas;
- e) falta de resultados consistentes e previsíveis em campo e de análise de custo e benefício da inoculação.

A falta de inoculante comercial representa o principal obstáculo para a exploração dos fungos MAs. Mesmo existindo várias alternativas para multiplicação do fungo *in vivo* utilizando-se meios inertes sem solo ou em sistema hidropônico, inoculantes de boa qualidade são ainda raros no mercado mundial e não disponíveis comercialmente no Brasil. Apesar de várias tentativas, a comercialização dos fungos MAs é ainda muito limitada. Várias empresas internacionais colocaram no mercado produtos como: Nutri-Link (NPI-EUA), Mykovan (Filipinas), Mycorini-Mix (Premier Peat-Canadá), Vaminoc (Reino Unido e Japão) e Fungifert (Gira Agroindustrial, Colômbia) (Plant Health Care Inc, EUA). Com exceção do Fungifert, que vem sendo aplicado em grande escala na cafeicultura colombiana, nenhum desses produtos teve aceitação ampla e permaneceram no mercado por muito tempo.

Para a produção desses inoculantes, os propágulos são multiplicados em solos ou substratos desinfestados. Para conseguir isso, fungos nativos ou introduzidos devem ser multiplicados, selecionados e fornecidos aos produtores de inoculantes, conforme fluxograma geral apresentado na **figura 10.30**.

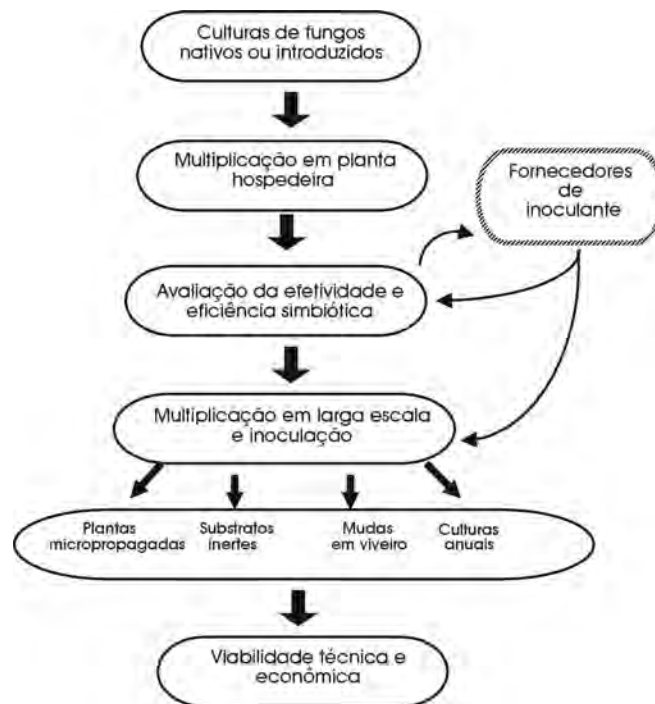


Figura 10.30. Principais etapas do desenvolvimento de tecnologia para uso das MAs. (Modificado de Siqueira, 1994b.)

Vários isolados são disponíveis para inoculação de culturas nos trópicos, destacando-se, por exemplo: *Entrophospora colombiana* e *Glomus manihotis*, para pastagens e culturas tipicamente tropicais, *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum* e *Glomus etunicatum*, para o cafeeiro e mudas de árvores tropicais. Isolados locais podem ser facilmente selecionados e empregados em programas de inoculação. A partir das etapas iniciais de um programa de pesquisa, constatou-se na UFLA que a inoculação do cafeeiro com fungos MAs em solos de baixa fertilidade pode ser viável (Saggin-Junior & Siqueira, 1996). Mudas dessa cultura devem ser inoculadas com isolados regionais de *Glomus etunicatum* selecionados ou com mistura de *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*, que também ocorrem em cafeeiros da região. A elevada eficiência simbiótica da *G. margarita* para o cafeeiro foi demonstrada nos estudos pioneiros da inoculação do cafeeiro em campo no IAC-Campinas, mas o processo tecnológico não foi desenvolvido. No da UFLA, as mudas são inoculadas na repicagem para sacos plásticos, para sementeiras móveis (bandejas) ou para tubetes, e, em resposta, crescem mais rapidamente e com maior vigor que aquelas sem inoculação. Nessa fase, além do melhor desenvolvimento, existem outros benefícios como: menor tempo de permanência no viveiro, permitindo a antecipação da conclusão do processo de formação das mudas e do seu transplante mais cedo para o campo, ainda na estação chuvosa. Resultados semelhantes têm sido verificados com várias culturas fruteiras e espécies arbóreas para reflorestamento. Mudas de citros inoculadas com isolados eficientes têm

o período de enxertia reduzido para oito meses após a semeadura e os benefícios da micorrização se manifestam também quando as mudas enxertadas são transplantadas para o campo. Os efeitos da pré-colonização de mudas na produção do cafeeiro foram demonstrados em vários estudos realizados pela UFLA. Um exemplo é apresentado na **figura 10.31**, na qual se verifica efeito elevado da inoculação com diferentes isolados. A média de produção em relação à máxima foi de 64% para mudas inoculadas e apenas 28% para aquelas sem inoculação. Os resultados mostram que o benefício da pré-colonização das mudas desaparecem em alto P e, com o tempo, no campo. Os aumentos médios de produção em campo são de 50% a 60% em áreas de cerrado em Minas Gerais, o que equivale a 7 sacas (de 60 kg) de café beneficiado $\text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ (Siqueira et al., 1993). Apesar de não se conhecerem os custos exatos da inoculação nas condições brasileiras, acredita-se que o processo é economicamente viável, pois, considerando custos da ordem de US\$ 5,00 para cada 1.000 mudas, isso representaria custos da inoculação de US\$ 12,50 ha^{-1} no caso do cafeeiro no Brasil. Testes de inoculação realizados por agricultores, mediante o fornecimento de inoculante (solo infestado) preparado no Laboratório de Microbiologia do Solo da UFLA, confirmaram as vantagens da inoculação na formação e qualidade das mudas. Para maiores informações sobre MAs no cafeeiro, consultar Saggin-Junior & Siqueira (1996).

Procedimentos semelhantes aos mencionados para o cafeeiro podem ser adotados para outras culturas que passam por fase de formação de mudas e para espécies destinadas a reflorestamento ou recuperação de áreas degradadas, como vem sendo estudado por várias instituições do País e exploração comercialmente na cafeicultura colombiana. Portanto, embora ainda não seja uma tecnologia difundida, a aplicação das MAs em sistemas de produção de mudas é viável e tem enorme potencial no Brasil. A aplicação em larga escala só acontecerá se houver interesse dos agricultores e do mercado por essa tecnologia.

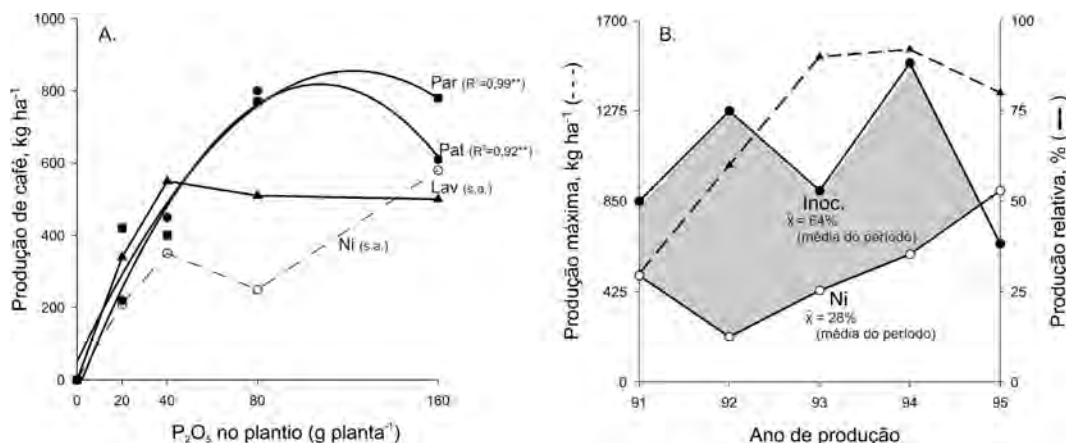


Figura 10.31. Produção de mudas de cafeeiro com diferentes adubações e pré-colonização com isolados de FMAs (Lav, Pat e Par) e não inoculadas (Ni) (A) e relativa à máxima nos primeiros cinco anos de produção (B). (Modificado de Siqueira et al., 1998a.)

Seleção e multiplicação de isolados eficientes

Para viabilizar o uso dos FMAs, é essencial possuir isolados fúngicos eficientes. O desempenho de isolados selecionados para inoculação, deve ser avaliado sob diferentes níveis de fertilidade (P), pois esse fator influencia o grau de colonização e o benefício da planta hospedeira. Quanto mais ampla a faixa de P no solo em que o fungo mantém a simbiose mutualista, maior é sua eficiência e potencial de uso. Essa eficiência pode ser estimada relacionando-se o benefício em crescimento que o isolado promove à planta (benefício micorrízico) com aquele que a planta sem o fungo obtém da adição de fósforo (benefício de P), conforme a **figura 10.32**. Esses valores são estimados matematicamente através de cálculo diferencial entre a curva de resposta a P da planta com e sem fungo, conforme a figura citada. Aplicando-se esse procedimento pode-se diferenciar e categorizar isolados quanto ao grau de eficiência e potencial para inoculação. Adotando-o, verificou-se que a eficiência simbiótica de *Gigaspora margarita* para mudas de cafeeiro foi de 97%, de isolados de *Glomus etunicatum* de lavouras cafeeiras, variaram de 32% a 81%, enquanto a de fungos indígenas do próprio solo de um isolado de *Glomus clarum* foi apenas de 20% relativo ao benefício da aplicação de P. Portanto, há isolados que podem substituir totalmente a adubação com P.

Uma questão-chave para a inoculação é a multiplicação do fungo selecionado que só pode ser conseguida empregando-se plantas hospedeiras. Os métodos mais utilizados para multiplicação desses fungos usam plantas e substratos desinfestados, sendo as mais comuns nas regiões tropicais: capim-sudão (*Sorghum bicolor*), grama-batatais ou baiana (*Paspalum notatum*), capins-braquiárias (*Brachiaria decum-*

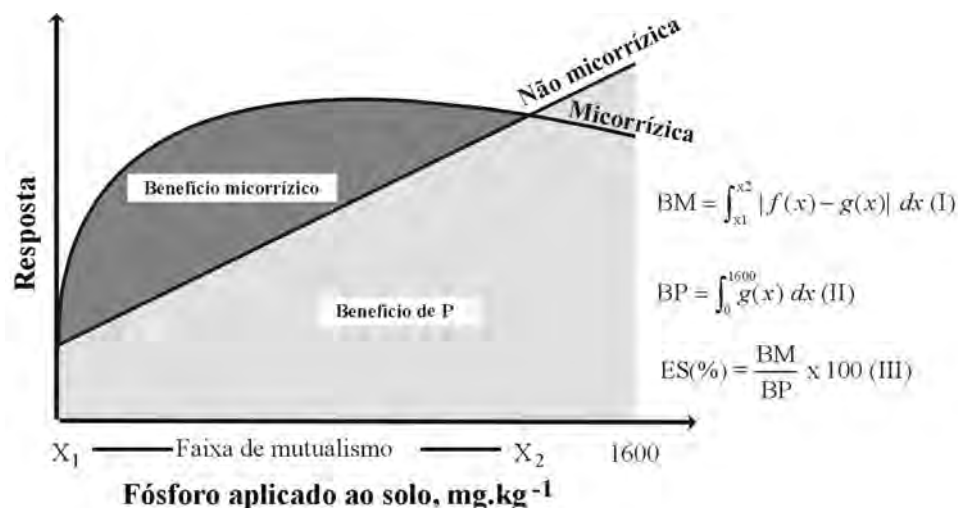


Figura 10.32. Definição e cálculo do benefício micorrízico (BM) e do benefício do fósforo (BP) e da eficiência simbiótica (ES). $f(x)$: função ajustada para plantas micorrízicas; $g(x)$: função ajustada para plantas não micorrízicas (Saggin-Júnior & Siqueira, 1996).

bens e outras espécies), sorgo (*Sorghum vulgare*), milho (*Zea mays*), capim-andropogon (*Andropogon gayanus*), capim colônia (*Panicum maximum*), cudzu tropical (*Pueraria phaseoloides*), centrosema (*Centrosema macrocarpum*), carrapicho-beiço-de-boi (*Desmodium ovalifolium*) e estilosante (*Stylosanthes capitata*). As gramíneas produzem mais raízes colonizadas, que são também importantes propágulos, mas as leguminosas geralmente promovem esporulação mais abundantemente. É comum e sempre vantajoso empregar mais de uma espécie de planta na multiplicação.

Os substratos de uso mais comum são: solo, areia, turfa, argilas expandidas, compostos orgânicos e suas misturas, todos devidamente desinfestados. A escolha do substrato depende da disponibilidade local, do custo, do peso, da preferência do fungo e da perspectiva de uso direto deste como parte do substrato para mudas. Misturas de solo e areia são geralmente mais conducentes aos FMAs. Essa mistura é de baixo custo, tem boa drenagem e aeração e baixa disponibilidade de nutrientes, particularmente de P. Como apresentado na **tabela 10.21**, a esporulação do *G. etunicatum* foi melhor em substratos compostos de solo, vermiculita e areia, onde se podem produzir até 200.000 esporos por litro de substrato. Admitindo-se que apenas 50 esporos são suficientes para garantir boa colonização de uma muda, cada litro desse inóculo seria suficiente para micorrizar 4.000 mudas. Substratos minerais como argilas são também empregados com vantagens, como é o caso de argila expandida, material inorgânico industrializado, que apresenta baixa contaminação com patógenos, e a sobrevivência dos FMAs dentro dos espaços porosos da argila é alta e prolongada e o inoculante produzido, leve.

Tabela 10.21. Esporulação de *Glomus etunicatum* em *Brachiaria decumbens* com três meses de idade em diferentes substratos. Os dados são de um estudo não publicado de Aduino B. Fernandes da ESALQ/USP (*In memoriam*).

Substratos	Proporção solo*:substrato na mistura			
	1:1	1:4	1:8	0:1 (substrato)
	-----Nº de esporos/50 cm ³ -----			
Vermiculita	10.080	13.700	6.500	18
Areia	3.380	6.200	6.020	3.400
Fibra de vidro	2.700	306	464	44
Plantimax	64	48	16	18
Turfa	344	86	92	46

* No solo puro foram produzidos 1.000 esporos/50 cm³.

O inoculante ideal deve ser produzido em condições axênicas, livre de contaminantes. Existe certa expectativa na multiplicação axênica de FMAs em culturas de raízes transformadas pelos genes Ri ("root-inducing") da bactéria *Agrobacterium rhizogenes*; esse procedimento, porém, ainda não é viável em larga escala devido ao longo tempo gasto e ao baixo rendimento em produção de esporos. Sistemas hidropônicos com solução nutritiva estática ou circulante são também muito promissores. A produção de esporos é satisfatória quando a solução nutritiva é aspergida sobre as raízes (aerponia) e em sistemas

hidropônicos em areia. Em sistema aeropônico, empregando-se a batata-doce, em três meses pode-se produzir grande número de esporos como relatado por Souza et al. (1996) que obtiveram 20, 700 e 156.000 esporos infectivos de *Gigaspora margarita*, *Glomus etunicatum* e *Entrophospora colombiana* respectivamente, por grama de raízes de batata-doce. A esporulação em aeroponia varia muito com a espécie de fungo, apresentando, portanto, certa limitação para aplicação em longa escala.

Inoculação e resposta

Para a inoculação, empregam-se raízes micorrizadas e “solo-inóculo” contendo esporos, hifas e raízes micorrizadas ou suspensão de esporos sem impurezas. Esses são aplicados ao solo e sementes como péletes ou em carreadores como “alginatos”, que podem ser aplicados na semeadura, na repicagem de plântulas pré-germinadas, durante o transplante para o campo ou durante a propagação *in vitro* ou aclimação (Lovato et al., 1996). A inoculação das mudas na semeadura direta ou repicagem de plântulas são as mais comuns e têm sido utilizadas com bastante sucesso, que depende da aeração do substrato, do teor de matéria orgânica e da disponibilidade de nutrientes, particularmente de N e P, pois seu excesso inibe a micorrização. Os efeitos da matéria orgânica na micorrização são muito variáveis, mas geralmente benéficos, embora efeitos inibitórios também sejam relatados. A matéria orgânica favorece a aeração e o desenvolvimento de raízes, mas, se houver concentração elevada de nutrientes pode ser depressiva para a micorrização; por isso, a proporção de material orgânico no substrato não deve ultrapassar 25 a 30%. Assim, materiais ricos como o vermicomposto apresentam teores elevados de N e P disponíveis e devem ser empregados em menores proporções nos substratos.

Para garantir boa micorrização, deve-se também tomar cuidado com certas práticas da produção de mudas, como o uso de pesticidas, irrigação, adubação e luminosidade. O emprego de biocidas ou vapor na desinfestação do substrato ou sementeiras, visando à eliminação de microrganismos fitopatogênicos, nematóides, pragas e plantas invasoras, é comum na produção de mudas e, às vezes, até exigido por lei. Esses tratamentos eliminam os FMAs, resultando em raquitismo e sintomas de deficiência de nutrientes naquelas plantas com alta dependência micorrízica. Nesse caso, torna-se necessária a reinfestação do substrato com FMAs para garantir mudas de boa qualidade. Também o uso de fungicidas em mudas e sementes é freqüente, podendo inibir a formação de micorriza. Por outro lado, Aldicarbe, um inseticida, acaricida e nematocida sistêmico de solo, pode ter efeitos benéficos sobre os FMAs, tanto que seu uso tem sido recomendado para garantir a ausência de pragas e nematóides em vasos de multiplicação de FMAs. Os outros fatores relacionados ao manejo de mudas que podem afetar os FMAs são luminosidade, irrigação e adubação. O excesso de água e nutrientes ou a iluminação insuficiente comprometem a micorrização.

Embora ainda muito pouco empregadas, as inoculações com FMAs bem sucedidas são esperadas em diversas situações (**Tabela 10.22**). Inoculações não são bem sucedidas, em solos muito férteis ou submetidos a adubações pesadas, onde, mesmo que a micorriza se estabeleça, os benefícios para a planta serão reduzidos. Assim, a condição ótima de fertilidade que maximiza a resposta das MAs precisa ser conhecida para cada cultura. Em solos com fertilidade muito baixa, a aplicação de nutrientes, especialmente

Tabela 10.22. Situações em que se espera alto grau de sucesso da inoculação com FMAs.

- Solos com baixa infectividade ou totalmente isentos de propágulos de fungos MAs. Exemplos: solos degradados, fumigados, cultivados com plantas não-hospedeiras, em pousio ou empilhados por períodos prolongados.
- Solos com condição nutricional abaixo do ótimo para o crescimento máximo da planta.
- Em condições estressantes de crescimento como agentes fitotóxicos.
- Locais com alta incidência de doenças do sistema radicular.
- Quando espécies ou isolados fúngicos efetivos e adaptados às condições edafoclimáticas forem disponíveis para inoculação.
- Quando a fertilidade do solo e as aplicações de fertilizantes e corretivos forem adequadamente controlados.
- Quando a oferta de fertilizantes ou os preços se tornarem limitantes aos agricultores.
- Quando a tecnologia apropriada para produção, armazenagem e comercialização de inóculo se tornar disponível.
- Em condições de cultivo ou plantio com baixo uso de insumos como agricultura orgânica e áreas de recomposição florística.

de P, favorece a micorrização e os efeitos da inoculação. Em solo de cerrado, mudas de cafeeiro inoculadas com FMAs e plantadas em solo muito deficiente em P, só aumentaram a produção de grãos em campo quando receberam P no plantio mas em quantidades elevadas, anularam os efeitos da inoculação. Estudo realizado na Califórnia-EUA mostrou que citros não respondem à inoculação com *Glomus deserticola* em solos contendo acima de 34, 12 e 27 mg kg⁻¹ de P (Olsen), Zn e Mn respectivamente. Os resultados indicam que a inoculação com FMAs seria benéfica em 77% dos solos daquele Estado, quando plantados com citros.

As condições biológicas do solo também influenciam nas respostas à inoculação, cujos efeitos são maiores em solos esterilizados, mas ocorrem também naqueles sem esterilização, onde o fungo introduzido tem que competir com fungos indígenas, geralmente bem adaptados, e também com os antagonistas, hiperparasitas e outros componentes da biota do solo que interferem nas MAs. Verificou-se, na Colômbia, que a produtividade da mandioca, em resposta à inoculação com FMAs, decresceu de 28% em solos até com 213 esporos por 100 g de solo para cerca de 10% em solos contendo mais de 823 esporos por 100 g de solo (Sieverding, 1991). Do mesmo modo, a resposta do estíloso à inoculação é mínima em solos com mais de 20% de colonização espontânea. Portanto, os efeitos da inoculação dependem do potencial de infectividade do solo e da eficiência da população indígena. Como a capacidade de formar micorriza (infectividade) da maioria dos solos agrícolas é baixa, podem-se obter respostas à inoculação nesses solos, mesmo quando não esterilizados, fato que tem sido confirmado para várias culturas, como cafeeiro, soja e sorgo em solo de cerrado.

Manejo dos FMAs indígenas

O uso das MAs em culturas anuais ou de ciclo curto, como as produtoras de grãos, é mais difícil de ser praticado via inoculação. Diversos estudos realizados no exterior apontam os benefícios da inoculação de culturas anuais, mas deixam clara a inviabilidade econômica desse procedimento devido, principalmente, à elevada quantidade de inoculante necessária e não disponível e ao custo de produção e aplicação desse insumo biológico. Embora em densidade e qualidade muito variáveis, a maioria dos solos agrícolas têm propágulos de MAs. Estes, no entanto, estão geralmente em níveis insuficientes para alcançar taxas precoces de colonização capazes de garantir benefícios nutricionais a culturas de ciclo curto, como a soja e o milho. A colonização das raízes deve atingir seu máximo antes do pico da demanda de nutrientes, quando o déficit de P da cultura em condições nutricionais subótimas se manifesta com maior intensidade. Como isso não ocorre, devido à baixa infectividade natural do solo, torna-se necessário manejar os FMAs indígenas de modo a maximizar seu potencial. Isso pode ser conseguido implementando-se práticas de manejo que minimizem os impactos negativos sobre os FMAs e que aumentem a densidade de propágulos e colonização micorrízica. Todavia, devido à diversidade dos FMAs, ao conhecimento inadequado das relações fungo-solo-planta e à variabilidade de respostas e complexidade do agrossistema, torna-se difícil prever os efeitos das práticas de manejo sobre as alterações na população de FMAs em agroecossistemas (**Figura 10.33**). As alterações nas populações são obtidas através do manejo dos inúmeros fatores do agrossistema como, por exemplo, pH e calagem, da cultura (não micotrófica x micotrófica) que tem efeito multiplicador diferenciado e, em algum aspecto, do fungo (sobrevivência e esporulação, riqueza e dominância). O manejo das micorrizas é fundamentado na quantidade e na qualidade dos fungos que ocorrem no ecossistema, podendo existir várias situações (Tabela 10.20), nas quais o manejo do solo pode ser realizado como se segue:

- a) Com densidade de populações baixa e eficiência alta: manejar a cobertura vegetal para aumentar a população;
- b) Com densidade de populações baixa e eficiência baixa: deve-se promover substituição da população e aumentar a densidade de propágulos (infectividade natural), por meio de manejo das culturas;
- c) Com densidade de populações alta e eficiência alta: manejar de modo a manter a população indígena;
- d) Com densidade de populações alta e eficiência baixa: deve-se promover a substituição da população.

Os resultados apresentados na **figura 10.34** mostram o efeito diferenciado do uso do solo (cultura anterior) na densidade de propágulos de FMAs no solo e na produtividade do sorgo. Observa-se que áreas cultivadas com soja e mucuna tiveram alta densidade de esporos de FMAs e garantiram maior produção, ao contrário daquelas pré-cultivadas com plantas, como o repolho, não hospedeiras desses fungos ou que permaneceram em pousio. Partindo-se de uma boa base de dados, portanto, pode-se orientar práticas seletivas com efeitos benéficos ou efeitos adversos sobre a biota fúngica influenciando/alterando o potencial de inóculo e a qualidade da população e seus efeitos na produção. Com isso, isolados eficientes podem ser aumentados e espécies dominantes pouco eficientes suprimidas, atingindo um novo equilíbrio “desejado” por meio de manejo biológico do solo.



Figura 10.33. Interações e efeitos dos FMAs no solo e na produção. Principais fatores que influenciam tais relações em agrossistemas.

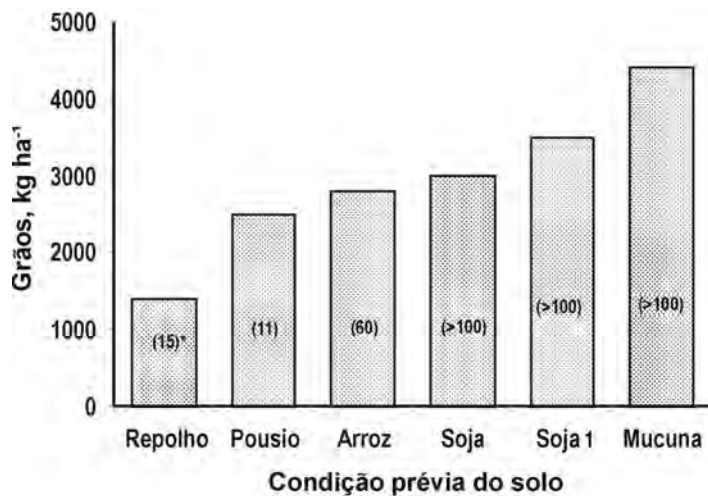


Figura 10.34. Influência da cultura anterior na produção do sorgo em solo de cerrado, e (*) densidade de esporos de fungos MAs após cultivo. (Dados de Sano et al., 1987.)

Embora a simbiose não seja específica, existem evidências de hospedeiros preferenciais de certos fungos, o que representa uma ferramenta importante no manejo. Na cultura da mandioca na Colômbia a rotação de culturas alterou a proporção de esporos de espécies eficientes, aumentando-as de 33% para 52%, enquanto os de espécies não eficientes reduziram de 52% para 27% na mandioca em monocultura para sistema de rotação com leguminosa (**Figura 10.35**). As alterações nas populações de FMAs, nesse caso, foram acompanhadas de aumento de produtividade superior a 100%. Em solos sob pousio prolongado, cultivados com plantas não hospedeiras e nas monoculturas prolongadas, práticas como a rotação de culturas podem aumentar a infectividade do solo e, com isso, contribuir para melhorar a sustentabilidade do agrossistema. Um ótimo exemplo é a ocorrência de isolados de FMAs antagonísticos ao crescimento do fumo em monocultura prolongada. Nesse caso, a rotação de culturas faz-se necessária para reduzir a dominância dos isolados indesejáveis. A maior dificuldade prática do manejo dos FMAs é a previsibilidade dos seus efeitos. Em rotação de culturas, as condições micorrízicas do solo e a dependência das culturas são fatores importantes na definição de sistemas de rotação. Como orientação geral, deve-se considerar o seguinte:

a) utilizar culturas com baixa dependência micorrízica, em solos com baixa população (infectividade) de FMAs. Do contrário, as culturas terão que receber adubações pesadas ou apresentarão baixa produtividade;

b) adotar culturas com elevada dependência micorrízica, em solos com alta população (infectividade) de FMAs, as quais contribuirão para manter a população elevada de fungos no solo, desde que a adubação não seja em excesso;

c) em solos infestados com patógenos ou com elevadas populações de isolados de FMAs ineficientes, utilizar plantas não hospedeiras desses patógenos e que sejam bons hospedeiros de FMAs.

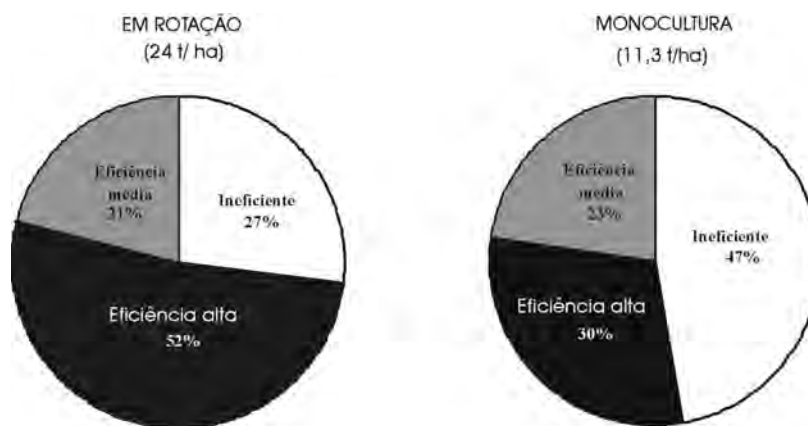


Figura 10.35. Efeito do manejo da cultura na proporção de fungos Glomales de diferentes graus de eficiência para a produção da mandioca. (Sieverding, 1991.)

Uma estratégia nova para aumentar a contribuição dos FMAs em solos agrícolas é o emprego de compostos aromáticos do grupo dos isoflavonóides como a formononetina identificada como um princípio ativo orgânico natural existente em exsudatos de plantas deficientes em P e que estimula os FMAs, aumentando a colonização das raízes (Nair et al., 1991; Siqueira et al., 1991b). A aplicação dessa substância no solo, por ocasião da sementeira, acelera a micorrização (**Figura 10.36**) e favorece o crescimento da planta hospedeira. A formononetina facilita a penetração do fungo nas raízes e a colonização total e por arbúsculos, tanto no milho quanto na soja (Tabela 10.5). O uso dessa substância como estimulante das MAs acha-se patenteado nos EUA, existindo formulações disponíveis para comercialização. Em estudos desenvolvidos na UFLA, 62 a 107 g ha⁻¹ de formononetina formulada como "Myconate" aplicados na semente de milho ou no solo, antes da sementeira, aumentou o desenvolvimento das plantas e a produção de grãos de 8.000 para 10.400 kg ha⁻¹, correspondendo ao acréscimo de 28% ou 37 sacas ha⁻¹. Respostas da mesma magnitude têm sido encontradas para a soja em condições semelhantes de cultivo. Essa tecnologia abre novas perspectivas para facilitar a exploração dos FMAs na agricultura comercial. No entanto, vários aspectos devem ser considerados, quando se pretende fazer uso desses estimulantes da micorrização como apresentados na **tabela 10.23**.

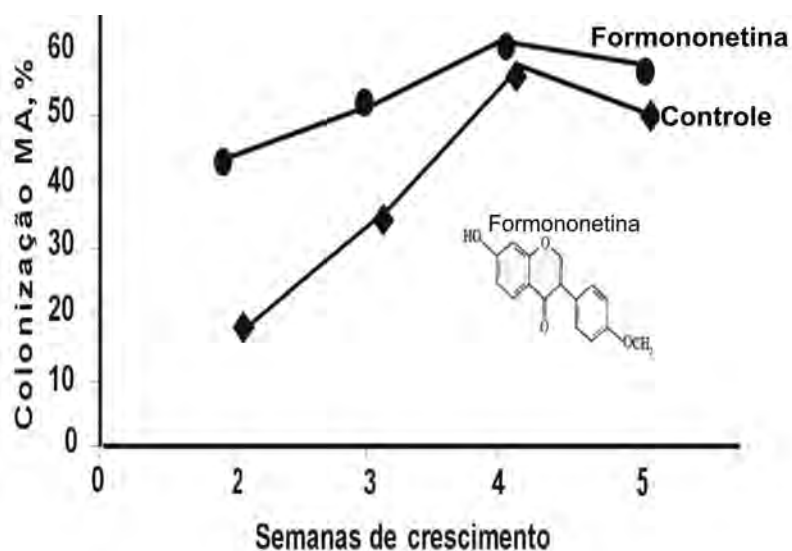


Figura 10.36. Estrutura química e efeito do isoflavonóide formononetina na velocidade de colonização micorrízica do trevo. (Siqueira et al., 1991b.)

Tabela 10.23. Aspectos fundamentais a considerar no uso de isoflavonóides como estimulantes da micorrização e da produtividade das culturas.

Principais fatores	Situação que favorece/comentário
Micotrofismo da cultura.	Deve apresentar alta compatibilidade com os fungos indígenas e ser responsiva à micorrização.
Presença de propágulos fúngicos.	Isoflavonóide atua na ativação dos propágulos existentes no solo.
Infectividade/potencial de inoculo.	Densidade abaixo da necessária para alcançar a máxima colonização (população reduzida ou de baixa infectividade). Sem efeitos em solos com alta densidade de propágulos.
Eficiência simbiótica do fungo.	Os benefícios dependerão da existência de fungos eficientes para a cultura a explorar.
Exigência/estado nutricional da planta.	Condições nutricionais subótimas ou existência de outros fatores que interferem na nutrição.
Ambiente de crescimento da planta.	Existência de estresses abióticos moderados favorece a manifestação dos efeitos.
Viabilidade tecnológica.	Existem formulações comerciais disponíveis para aplicação nas sementes ou no solo. Faz-se necessário ampliar análises da viabilidade econômica.

10.4. Ectomicorrizas

10.4.1. Origem e ocorrência

As ectomicorrizas desenvolveram-se mais tarde que as MAs, a partir da evolução do micobionte do hábito saprofítico para o mutualista, o que parece ter ocorrido convergentemente em diferentes ocasiões e com um único registro fóssil do período eoceno, datado de 50 milhões de anos. No entanto, evidências de estudos moleculares sugerem que esses fungos surgiram há aproximadamente 130 milhões de anos no período cretáceo coincidindo com as primeiras evidências fósseis da família Pinaceae à qual pertencem os hospedeiros típicos das ectomicorrizas. Membros dessa família, portanto, são considerados os hospedeiros de origem e constituem os principais parceiros da simbiose.

A predominância de micorriza na família é responsável pelo sucesso de seus membros em ocupar uma grande variedade de *habitats* com grande amplitude climática e edáfica. Há indícios de que elas contribuíram para a extensão das florestas dos trópicos para as zonas temperadas, onde o clima é menos constante e os solos mais pobres, situações onde as micorrizas se tornam essenciais. Evidências também sugerem que as ectomicorrizas evoluíram como estratégia de sobrevivência para ambos os simbioses em ambientes de baixa fertilidade, em períodos de seca prolongados ou de doenças, temperaturas baixas e outras condições adversas (Pirozynski, 1981). Por esses benefícios, as ectomicorrizas tornaram-se importantes agentes estruturadores de comunidades, influenciando a sucessão e a resiliência das plantas nas florestas durante processos de mudanças climáticas intensas. Além disso, os fungos ectomicorrízicos são também fonte de alimentos para animais em ecossistemas florestais, participando, assim, da cadeia trófica e da manutenção da estabilidade desses ecossistemas (Oliveira & Giachini, 1999).

As ectomicorrizas são típicas de espécies arbóreas, ocorrendo apenas em cerca de 10% das espécies vasculares e em 90% das espécies arbóreas de clima temperado. Nas florestas temperadas, são encontradas predominantemente em plantas lenhosas, em particular nas famílias Pinaceae (95% das espécies formam a associação), Fagaceae (94%), Betulaceae (70%) e Salicaceae (83%). A condição ectomicorrízica predomina, também, em duas outras famílias não pertencentes às árvores de clima temperado, a Myrtaceae e Dipterocarpaceae, que se espalham por diferentes condições climáticas das áreas tropicais e neotropicais. A incidência da simbiose nas espécies dessas famílias é bastante elevada, atingindo quase a totalidade das Dipterocarpaceae da África, por exemplo. Com exceção das espécies do gênero *Eucalyptus*, muito pouco se conhece sobre a incidência das ectomicorrizas nas *Myrtaceae* tropicais. As ectomicorrizas são também encontradas em menor proporção nas famílias Leguminosae (16%), Rosaceae (12%), Euphorbiaceae (7%), Scrophulariaceae (4%), Rubiaceae (3%) e Cyperaceae (35%) (Wilcox, 1990). Na última edição do livro *Mycorrhizal Symbiosis* são listadas 35 famílias de plantas como representantes ectomicorrízicas (**Tabela 10.24**). A ocorrência dessa simbiose em plantas nativas de florestas tropicais é ainda pouco estudada, mas parece ser rara diante da ampla diversidade de espécies existentes. Essa associação é bastante comum em leguminosas representantes da subfamília Caesalpinioideae, que são caracteristicamente não nodulíferas (gêneros *Azelia*, *Intsia* e *Eperua*). Em savanas secas da África, os gêneros *Brachystegia* e *Jubernaldia*, também das leguminosas, são ectomicorrízicos. Ao contrário, as outras duas subfamílias das leguminosas que são predominantemente nodulíferas, formam micorrizas arbusculares, e não ectomicorrizas. Algumas plantas arbustivas e herbáceas como espécies do gênero *Dryas*, *Helianthemum*, *Polygonum*, *Kobresia* e *Campomanesia* também formam ectomicorrizas. Várias espécies de árvores, como aquelas marcadas com B na tabela 10.24 pertencentes às mais diversas famílias, formam ectomicorrizas e endomicorrizas arbusculares, como acontece com espécies de *Eucalyptus*, *Alnus* e *Acacia*. No caso de *Eucalyptus*, as MAs predominam na fase inicial (mudas), mas praticamente desaparecem com o tempo, dando lugar às ectomicorrizas, sendo de rara ocorrência em florestas adultas. Comportamento diferente se observa com a *Acacia mangium*, uma leguminosa na qual se verifica um equilíbrio entre os dois tipos de micorrizas. Esse comportamento das micorrizas em *Eucalyptus* já foi documentado também em florestas plantadas em Santa Catarina e em

Tabela 10.24. Famílias e gêneros de plantas que contêm espécies nas quais ectomicorrizas têm sido descritas (Modificada de Harley & Smith 1983).

Família/Subfamília	Gêneros
Aceraceae	<i>Acer</i> ^B
Betulaceae	<i>Alnus</i> ^B , <i>Bétula</i> , <i>Carpinus</i> ^B , <i>Corylus</i> ^B , <i>Ostrya</i> ^B , <i>Ostryopsis</i> ^B
Caesalpinioideae	<i>Azelia</i> ^B , <i>Aldina</i> , <i>Anthonota</i> , <i>Berlinia</i> , <i>Brachystegia</i> , <i>Eperua</i> , <i>Gilbertiodendron</i> ^B , <i>Intsia</i> ^B , <i>Julbernardia</i> ^B , <i>Monopetalanthus</i> , <i>Paramacrolobium</i> , <i>Tetraberlinia</i>
Caprifoliaceae	<i>Sambucus</i> ^B
Casuarinaceae	<i>Casuarina</i> ^B , <i>Allocasuarina</i> ^B
Cistaceae	<i>Helianthemum</i> ^B , <i>Cistus</i> ^B
Cupressaceae	<i>Cupressus</i> ^B , <i>Juniperus</i> ^B
Cyperaceae	<i>Kobresia</i> ^{+B}
Dipterocarpaceae	<i>Anisoptera</i> ^B , <i>Balanocarpus</i> , <i>Cotylelobium</i> , <i>Dipterocarpus</i> , <i>Dryobalanops</i> , <i>Hopea</i> , <i>Monotes</i> , <i>Shorea</i> ^B , <i>Valica</i>
Elaeagnaceae	<i>Shepherdia</i>
Epacridaceae	<i>Astroloma</i>
Ericaceae	<i>Arbutus</i> , <i>Arctostaphylos</i> , <i>Chimaphila</i> , <i>Gaultheria</i> , <i>Kalmia</i> , <i>Ledum</i> , <i>Leucothoë</i> , <i>Rhododendron</i> , <i>Vaccinium</i>
Euphorbiaceae	<i>Paranthera</i>
Fagaceae	<i>Castanea</i> ^B , <i>Castanopsis</i> ^B , <i>Fagus</i> ^B , <i>Lithocarpus</i> ^B , <i>Nothofagus</i> ^B , <i>Pasania</i> ^B , <i>Quercus</i> ^B , <i>Trigonobalus</i> ^B
Gnetaceae	<i>Gnetum</i>
Goodeniaceae	<i>Brunonia</i> [*] , <i>Goodenia</i> ^{+B}
Hammamelidaceae	<i>Parrotia</i>
Juglandaceae	<i>Carya</i> ^B , <i>Engelhardtia</i> , <i>Juglans</i> ^B , <i>Pterocarya</i>
Mimosoideae	<i>Acacia</i> ^B
Myrtaceae	<i>Angophora</i> ^B , <i>Callistemon</i> ^B , <i>Campomanesia</i> ^B , <i>Eucalyptus</i> ^B , <i>Leptospermum</i> ^B , <i>Melaleuca</i> ^B , <i>Tristania</i> ^B
Nyctaginaceae	<i>Neea</i> ^B , <i>Torrubia</i> ^B , <i>Pisonia</i> ^B
Papilionoideae	<i>Brachysema</i> , <i>Chorizema</i> , <i>Daviesia</i> , <i>Dillwynia</i> , <i>Eutaxia</i> , <i>Gompholobium</i> ^B , <i>Hardenbergia</i> ^B , <i>Jacksonia</i> , <i>Kennedyia</i> , <i>Mirbelia</i> ^B , <i>Oxylobium</i> ^B , <i>Platylobium</i> , <i>Pultenaea</i> , <i>Viminaria</i> ^B , <i>Swartzia</i>
Pinaceae	<i>Abies</i> , <i>Cathaya</i> , <i>Cedrus</i> ^B , <i>Keteleeria</i> , <i>Larix</i> , <i>Picea</i> , <i>Pinus</i> ^B , <i>Pseudolarix</i> , <i>Pseudotsuga</i> ^B , <i>Tsuga</i> ^B
Platanaceae	<i>Platanus</i> ^B
Polygonaceae	<i>Coccoloba</i> , <i>Polygonum</i> [*]
Rhamnaceae	<i>Cryptandra</i> , <i>Pomaderris</i> , <i>Rhamnus</i> ^B , <i>Spyridium</i> , <i>Trymalium</i>
Rosaceae	<i>Chaembatia</i> , <i>Cirocarpus</i> , <i>Crataegus</i> ^B , <i>Dryas</i> ^B , <i>Malus</i> ^B , <i>Prunus</i> ^B , <i>Pyrus</i> ^B , <i>Rosa</i> ^B , <i>Sorbus</i> ^B
Salicaceae	<i>Populus</i> ^B , <i>Salix</i> ^B
Sapotaceae	<i>Glycoxylon</i>
Sterculiaceae	<i>Lasiopetalum</i> ^B , <i>Thomasia</i>
Stylidiaceae	<i>Stylidium</i> ^B
Thymeliaceae	<i>Pimelia</i> ^B
Tiliaceae	<i>Tilia</i> ^B
Uapacaceae	<i>Uapaca</i> ^B
Ulmaceae	<i>Ulmus</i>

* Espécies herbáceas.

^B Podem formar tanto ecto quanto endomicorriza, sendo, esse último, o tipo mais comum na maioria dos casos.

outras partes do mundo, não sendo exclusivo desse gênero, ocorrendo também com *Helianthemum*. Membros da Salicaceae, como *Salix* e *Populus*, dependendo do local, podem apresentar alternadamente MAs ou ectomicorrizas. Por exemplo, em solos minerais ricos em nutrientes, espécies desses gêneros formaram MAs, enquanto em solos mais ricos em matéria orgânica predomina a colonização ectomicorrízica.

No Brasil, as ectomicorrizas são encontradas predominantemente nos plantios de pinos, eucalipto e com certa raridade, em outras espécies da Rosaceae (*Malus*, *Pyrus*, *Prunus* e *Rosa*), da Caesalpiniaceae (*Bauhinia* e *Cassia*) e na vegetação tipo “Campinarana”, que ocorre na Amazônia. Na vegetação de cerrado, tem-se a unha-de-vaca (*Bauhinia*) e a gabirola (*Campomanesia*), que podem formar ectomicorrizas.

10.4.2. Fungos ectomicorrízicos

Estima-se que existam mais de 5.000 espécies de fungos capazes de formar a simbiose ectomicorrízica. Esses simbiosistas são encontrados nas quatro divisões: Basidiomycota, Ascomycota, Zygomycota e Deuteromycota, sendo alguns exemplos apresentados na **tabela 10.25**. A maioria das espécies conhecidas pertence à Basidiomycota, ocorrendo tanto entre os himenomicetos quanto entre os gasteromicetos. Existem, também, espécies da secção secotióide, um grupo intermediário, caracterizado pela redução do estipe e pela presença de himênio convolvido, que permanece fechado durante o desenvolvimento do carpóforo (corpo de frutificação).

Os fungos ectomicorrízicos podem ser epigeos, quando frutificam acima da superfície do solo, ou hipógeos, quando o corpo de frutificação é produzido abaixo da superfície (**Figura 10.37**), sendo essa uma característica intrínseca a cada espécie fúngica. Muitos dos fungos ectomicorrízicos podem ser identificados em campo através de observações das frutificações macroscópicas associados às raízes ou em isolamentos em meios de cultura no laboratório. No Brasil, Basidiomicetos, que colonizam e frutificam com frequência em espécies de *Pinus* e *Eucalyptus*, são espécies pertencentes aos gêneros: *Pisolithus*, *Scleroderma*, *Rhizopogon*, *Amanita*, *Lactarius*, *Russula*, *Thelephora* e *Ramaria*, conforme lista das espécies mais comuns apresentadas na **tabela 10.26**.

O segundo grupo mais abundante de fungos ectomicorrízicos pertence à divisão Ascomycota. Alguns deles são de importância econômica, devido ao alto valor como fungos comestíveis, como espécies do gênero *Tuber*, as conhecidas trufas européias e as trufas do deserto (*Terfezia* spp. e *Tirmania* spp., também comestíveis), que se associam, principalmente, a plantas do gênero *Helianthemum*. Na Zygomycota, o gênero *Endogone* é o mais conhecido fungo ectomicorrízico. Espécies dos gêneros *Sclerogone* e *Densospora* (derivado de *Glomus tubiforme*), porém, também formam ectomicorrizas. Entre os fungos imperfeitos (Deuteromycota), apenas *Cenococcum geophilum* é citado como espécie formadora de ectomicorrizas em alguns hospedeiros, porém são de ocorrência muito restrita. Acredita-se que esse fungo seja a forma imperfeita (anamorfo) do ascomiceto *Elaphomyces antracinus*. Entretanto, comparações recentes de seqüências de DNA de espécies desses gêneros sugerem a separação dos dois em classes filogenéticas distintas.

Tabela 10.25. Fungos ectomicorrizicos e ectendomicorrizicos e respectivo hábito de frutificação. Listagem compilada de vários autores por Brundrett et al. (1996).

Divisão/Família	Gênero
DEUTEROMICOTA	<i>Cenococcum</i> (conidial)
ZIGOMICOTA	
Endogonaceae	<i>Endogone, Sclerogone</i> (H)
ASCOMICOTA	
Ascobolaceae	<i>Sphaerosoma</i> (H)
Balsamiaceae	<i>Balsamia, Picoa</i> (H)
Elaphomycetaceae	<i>Elaphomyces</i> (H)
Geneaceae	<i>Genea, Geneaba</i> (H)
Geoglossaceae	<i>Geoglossum, Leotia, Trichoglossum</i> (E)
Helvellaceae	<i>Gyromitra, Helvella, Barssia, Fischerula, Gymnohydnotrya, Hydnotrya, Mycocyclus, Mycocyclus</i> (H)
Pezizaceae	<i>Aleuria, Peziza, Phillipsia, Pulvinia, Sarcosphaera</i> (E)
Pyrenomataceae	<i>Amylascus, Hydnotryopsis, Muciturbo, Pachyphloeus, Peziza, Ruhlandiella</i> (H) <i>Geopora, Humaria, Jafneadelphus, Lamprospora, Sphaerosporella, Trichophaea, Wilcoxina, Choiromyces, Dingleya, Elderia, Geopora, Hydnobolites, Hydnocystis, Labyrinthomyces, Paurocotyis</i> (E)
Sarcoscyphaceae	<i>Reddellomyces, Sphaerozone, Stephensia</i> (H)
Terfeziaceae	<i>Plectania, Psedoplectania, Sarcocypha</i> (E)
Terfeziaceae	<i>Choiromyces, Terfezia</i> (H)
Tuberaceae	<i>Mukagomyces, Paradoxa, Tuber</i> (H)
BASIDIOMICOTA	
Amanitaceae	<i>Amanita, Limacella</i> (E) <i>Torrendia</i> (H)
Astraeaceae	<i>Astraeus</i> (E) <i>Pyrenogaster, Radligera</i> (H)
Boletaceae	<i>Austroboletus, Boletellus, Boletochaete, Boletus, Buchwaldoboletus</i> (E) <i>Chalciporus, Fistulinella, Gyrodon, Gyroporus, Heimiella, Leccinum, Phlebopus, Phylloporus, Pulveroboletus, Rubinoboletus, Suillus, Tylopilus, Xanthoconium, Alpova, Boughera, Chamonixia, Gastroboletus, Rhizopogon, Royungia, Truncocolumella</i> (H)
Cantharellaceae	<i>Cantharellus, Craterellus</i> (E)
Chondrogastraceae	<i>Chondrogaster</i> (H)
Clavariaceae	<i>Aphelaria, Clavaria, Clavariadelphus, Clavicornia, Clavulina, Clavulinopsis, Ramaria, Ramariopsis</i> (E)
Corticiaceae	<i>Amphinema, Byssocorticium, Byssosporia, Piloderma, etc.</i> (E)

Continua...

...Continuação

Cortinariaceae	<i>Astrosporina, Cortinarius, Cuphocybe, Dermocybe, Descolea, Hebeloma, Inocybe, Leucocortinarius, Rozites, Stephanopus</i> , etc. (E)
	<i>Cortinarius, Cortinomyces, Descomyces, Destuntzia, Hymenogaster, Quadrispora, Sechelliogaster, Thaxterogaster, Timgrovea</i> (H)
Cribbiaceae	<i>Cribbea, Mycolevis</i> (H)
Entolomataceae	<i>Clitopilus, Entoloma, Leptonia, Rhodocybe</i> (E)
	<i>Rhodogaster, Richoniella</i> (H)
Elasmomycetaceae	<i>Elasmomyces, Gymnomyces, Martellia, Zelleromyces</i> (H)
Gelopellidaceae	<i>Gelopellis</i> (H)
Gomphaceae	<i>Gomphus</i> (E)
Gomphidiaceae	<i>Chroogomphus, Cystogomphus, Gomphidius</i> (E)
Hydnaceae	<i>Bankera, Dentinum, Hydnum, Hydnum, Phellodon</i> (E)
Hygrophoraceae	<i>Bertrandia, Camarophyllus, Gliophorus, Humidicutis, Hygrocybe, Hygrophorus</i> (E)
Hysterangiaceae	<i>Hysterangium, Pseudohysterangium, Trappea</i> (H)
Leucogastraceae	<i>Leucogaster, Leucophleps</i> (H)
Lycoperdaceae	<i>Lycoperdon</i> (P)
Melanogastraceae	<i>Melanogaster</i> (H)
Mesophelliaceae	<i>Castoreum, Diploderma, Gummiglobus, Malajczukia, Mesophellia, Nothocastoreum</i>
Octavianinaceae	<i>Octavianina, Sclerogaster</i> (H)
Paxillaceae	<i>Paxillus</i> (E)
Pisolithaceae	<i>Pisolithus</i> (P)
Polyporaceae	<i>Albatrellus</i> (E)
Russulaceae	<i>Lactarius, Russula</i> (E)
	<i>Archangeliella, Cystangium, Macowanites</i> (H)
Sclerodermataceae	<i>Scleroderma</i> (P)
	<i>Horakiella, Scleroderma</i> (H)
Sedeculaceae	<i>Sedecula</i> (H)
Stephanosporaceae	<i>Stephanospora</i> (H)
Strobilomycetaceae	<i>Strobilomyces</i> (E)
	<i>Austrogautieria, Chamonixia, Gautieria, Wakefieldia</i> (H)
Thelephoraceae	<i>Boletopsis, Thelephora</i> (E)
Tricholomataceae	<i>Clitocybe, Cystoderma, Cantharellula, Gatathelasma, Laccaria, Lepista, Leucopaxillus, Tricholoma, Tricholomopsis, Gigasperma, Hydngangium, Podohydnangium</i> (H)

H = fungo hipógeo; E = fungo epígeo; P = "puffballs"

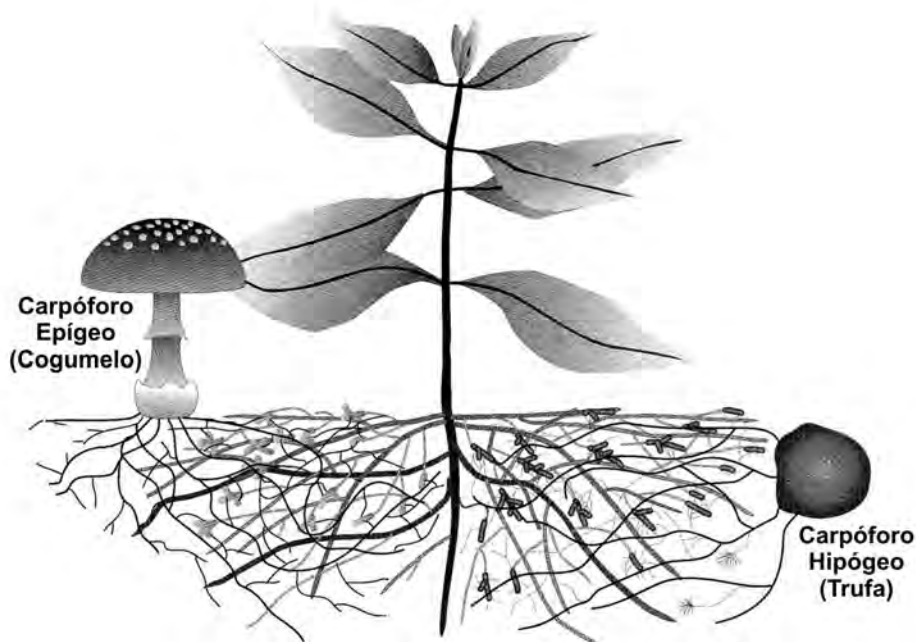


Figura 10.37. Representação esquemática da associação ectomicorrízica em eucalipto mostrando fungos epígeos e hipógeos. (Modificado de Brundrett et al., 1996.)

As ectomicorrizas se caracterizam por baixa diversidade de hospedeiros, mas alta diversidade de fungos, bem ao contrário do que ocorre nas MAs. Estudos em plantações de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp. em quatro diferentes regiões de Santa Catarina e do Uruguai, permitiram a identificação de 46 espécies de fungos ectomicorrízicos, pertencentes a 19 diferentes gêneros (Tabela 10.26), além de cerca de 15 espécies ainda não identificadas, entre elas uma nova espécie de *Chondrogaster* e duas hipógeas de *Scleroderma*. Na maioria dos casos, entretanto, a determinação da condição ectomicorrízica em plantações florestais limita-se ao levantamento de fungos de hábito epígeo, cujas frutificações são facilmente detectadas na superfície do solo e identificadas a campo, como ocorre com espécies dos gêneros *Amanita*, *Boletus*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Pisolithus*, *Ramaria*, *Suillus*, *Thelephora* e muitas outras. No entanto, inúmeros fungos de hábito hipógeo colonizam as plantas em ecossistemas florestais, como as do gênero *Alpova*, *Chondrogaster*, *Decomyces*, *Hydnangium*, *Hysterangium* e *Rhizopogon*, e algumas do gênero *Scleroderma*. Oliveira & Giachini (1999) relatam que nas plantações de *Pinus* em Santa Catarina são encontradas com frequência, e em abundância, frutificações dos gêneros hipógeos *Chondrogaster*, *Descomyces*, *Hysterangium* e *Timgrovea* e em plantações de *Eucalyptus* espécies de *Rhizopogon*. Em outros países tropicais, especialmente da África, *Amanita muscaria*, *Boletus* sp., *Hebeloma crustilimiforme*, *Lycoperdon perlatum*, *Rhizopogon* sp., *Scleroderma* sp., *Suillus granulatum*, *S. luteus*, *S. sibiricus* e *Thelephora terrestris* têm sido encontrados associa-

Tabela 10.26. Fungos ectomicorrízicos mais freqüentemente encontrados em plantações de *Eucalyptus* spp. e *Pinus* spp. em Santa Catarina e no Uruguai (Oliveira & Giachini, 1999).

Ordem	Família	Espécie	Hospedeiro
Agaricales	Amanatiaceae	<i>Amanita muscaria</i> , <i>A. pantherina</i> var. mult.	<i>Pinus taeda</i> , <i>Eucalyptus dunnii</i>
	Cortinariaceae	<i>Cortinarius castaneo-fulvus</i> , <i>Descomyces albus</i> , <i>Inocybe australiensis</i> , <i>Setchelliogaster tenuipes</i>	<i>Eucalyptus dunnii</i>
	Ticholomataceae	<i>Laccaria amethystina</i> , <i>L. bicolor</i> , <i>L. laccata</i> , <i>L. laccata</i> var. <i>pallidifolia</i> , <i>L. lateritia</i> , <i>L. proxima</i> , <i>L. pumila</i> , <i>L. tortilis</i>	<i>Pinus taeda</i> , <i>Eucalyptus dunnii</i>
Russulaes	Russulaceae	<i>Lactarius argillaceifolius</i> var. <i>arg.</i> , <i>L. deliciosus</i> , <i>L. fragilis</i> , <i>L. rufus</i> , <i>L. rufus</i> var. <i>parvus</i>	<i>Pinus elliotii</i> <i>Pinus</i> sp. <i>Pinus taeda</i>
Aphylophorales	Clavariaceae	<i>Ramaria anziana</i> , <i>R. junquilleo-vertex</i>	<i>Eucalyptus</i> spp.
	Thelephoraceae	<i>Thelephora americana</i> , <i>T. griseo-zonata</i> , <i>T. terrestris</i>	<i>Pinus</i> sp. <i>Eucalyptus</i> sp.
Boletales	Boletaceae	<i>Boletus piperatus</i>	<i>Pinus taeda</i>
		<i>Rhizopogon fuscorubens</i>	<i>Pinus</i> sp.
		<i>R. nigrescens</i>	<i>Pinus</i> spp.
		<i>R. rubesbens</i> , <i>R. vulgaris</i>	<i>Pinus taeda</i>
Sclerodermatales	Sclerodermataceae	<i>Suillus cothurnatus</i> , <i>S. granulatus</i>	<i>Pinus</i> sp.
		<i>Scleroderma albidum</i> , <i>S. areolatum</i> , <i>S. bovista</i> , <i>S. bougheri</i> , <i>S. citrinum</i> , <i>S. floridanum</i> , <i>S. fuscum</i> , <i>S. pulveratum</i> , <i>S. uruguayense</i> , <i>S. verrucosum</i>	<i>Eucalyptus dunnii</i>
		Psolitaceae	<i>Psolithus microcarpus</i>
Chondrogastrales	Chondrogastraceae	<i>Chondrogaster angustiporus</i>	<i>Eucalyptus dunnii</i>
Phallales	Hysteriangeaceae	<i>Hysterangium gardneri</i>	<i>Eucalyptus dunnii</i>

dos com plantios exóticos de espécies de *Pinus*. Na Austrália, tem-se estudado muito a ocorrência de ectomicorrizas nas florestas de *Eucalyptus* sp.

Devido ao trabalho pioneiro e intenso de Marx et al. (1992), do Serviço Florestal em Athens-Geórgia (EUA) sobre a aplicação de fungos ectomicorrízicos na silvicultura, os estudos sobre ectomicorrizas no Brasil e em outros países têm dado grande ênfase à espécie *Pisolithus tinctorius* (Cooke & Couch). Os isolados norte-americanos dessa espécie fúngica parecem específicos de coníferas, enquanto, no Brasil, as frutificações e micorrizas de *Pisolithus* ocorrem especificamente em plantações de *Eucalyptus*. Provavelmente, esses sejam ecótipos australianos introduzidos aqui com o hospedeiro. Apesar da dife-

rença de especificidade, no Brasil geralmente adota-se o epíteto *tinctorius* para as espécies aqui encontradas, o que não é correto, pois existem outras espécies do gênero *Pisolithus*, as quais podem ocorrer aqui (Junghans et al., 1998). Nas plantações de *Eucalyptus* spp., de Santa Catarina, a espécie encontrada é a *Pisolithus microcarpus*. Outras espécies conhecidas são: *Pisolithus albus* (Cooke e Masee) Priest, nom prov., *Pisolithus marmoratus* (Berkeley) Priest, nom prov., *Pisolithus microcarpus* (Cooke e Masee) Cunn., que, na Austrália se encontram também associadas com *Eucalyptus* spp., ou *Pisolithus aurantioscabrous* Watl., descrita em florestas tropicais na Malásia, *P. kisslingi* Fisch, na Sumatra, e *P. pusillum* Pat.

10.4.3. A especificidade fungo-hospedeiro e a sucessão

As ectomicorrizas apresentam especificidade fungo-hospedeiro manifestada, principalmente em nível de gênero, e, em alguns casos, de espécie. Ainda assim, em uma única árvore podem ser encontradas até 30 espécies distintas de fungos, embora, normalmente, se encontrem apenas de duas a três espécies colonizando uma árvore. Algumas espécies são muito específicas como, por exemplo, *Suillus grevillei*, que se associa somente a plantas do gênero *Larix*, enquanto *S. bovinus*, *S. luteus* e *S. granulatus* só se associam a espécies de *Pinus*. Tem sido sugerido que a especificidade pode ocorrer mesmo entre isolados de uma mesma espécie fúngica e que o *Pisolithus* sp. isolados de *Pinus* sp. e de *Eucalyptus* sp., difere em sua habilidade de colonizar as raízes de *E. urophylla*. Entretanto, considerando o que já foi discutido sobre a taxonomia desse grupo, pode-se supor que os dois isolados testados pertençam a duas diferentes espécies deste gênero: o de *Pinus* pode ser o verdadeiro *P. tinctorius*, enquanto o de *Eucalyptus* seria uma das espécies anteriormente mencionadas. Isso pode ocorrer nas florestas plantadas do Brasil, cujas frutificações e micorrizas típicas de *Chondrogaster*, *Descomyces*, *Hysterangium*, *Pisolithus* e *Setchelliogaster* só são observadas em plantações de *Eucalyptus* spp., não havendo evidência alguma de sua presença em plantações de *Pinus*. Inversamente, as frutificações de *Amanita*, *Rhizopogon*, *Lactarius* e *Suillus* têm sido encontradas em plantações de *Pinus* spp.

Apesar de bem evidenciada a especificidade fungo-planta nessa associação, as ectomicorrizas apresentam fenômenos de sucessão dos fungos em função da idade da floresta. Estudos feitos na Universidade de Edinburgh (Escócia), analisando o padrão temporal e espacial de produção carpóforos, verificaram uma sucessão de espécies fúngicas ectomicorrízicas em plantações de *Betula* spp. Os fungos presentes inicialmente eram gradativamente substituídos por outras espécies, de forma que a comunidade de fungos ectomicorrízicos em povoamentos adultos era bastante diferente daquela de povoamentos jovens. Resultados semelhantes têm sido relatados na Nova Zelândia e na Austrália, com *Pinus* e *Eucalyptus*, sugerindo a existência de fungos ectomicorrízicos de estágio inicial e fungos de estágio tardio no ecossistema florestal. Um terceiro grupo sucessional de fungos com características de multiestádios parece existir. Eles representam os fungos encontrados frutificando durante todo o ciclo de vida das plantas. Os de estágio tardio são incapazes de colonizar raízes de plântulas isoladas, indicando sua forte adaptação e elevado grau de especificidade. Estudo em floresta de *Pinus banksiana*, no Canadá, revelou que a diversidade de tipos morfológicos de mi-

corrizas aumentou de 12 em áreas com menos de dez anos para 25 tipos naquelas com mais de 65 anos. Naquela condição, portanto, ocorre um aumento na riqueza de espécies com o avanço da idade da floresta.

As razões para a sucessão fúngica nos ecossistemas florestais não são bem estudadas, mas várias hipóteses têm sido propostas para explicar isso, que tem relação ao atendimento das exigências nutricionais do fungo pela comunidade de plantas hospedeiras. Supõe-se, nesse caso, que fungos de estágio tardio apresentam maior demanda de carboidratos que os de estágio inicial, onde as plantas em crescimento não atenderam à demanda energética do fungo e que, por isso, sua associação com plantas jovens seria dificultada, se não houvesse árvores adultas na comunidade. Os fungos de estágios tardios têm além de maior demanda por carboidratos, preferência por nutrientes na forma orgânica, os quais são abundantes nos solos de povoamentos adultos, onde a qualidade do substrato do manto florestal é inferior, havendo, porém, grande abundância do material orgânico (serrapilheira).

10.4.4. Formação da simbiose ectomicorrízica

A formação das ectomicorrizas é um processo seqüenciado que ocorre de modo rápido como resumido na **figura 10.38** e na **tabela 10.27**. Inicia-se com a ativação dos propágulos do fungo no solo por meio de sinais moleculares nutricionais que levam ao processo de contato entre as células e ao reconhecimento celular. Em seguida, ocorrem modificações morfológicas acentuadas no fungo, como a agregação das hifas e o processo de penetração das raízes e posterior diferenciação em estruturas multicelulares que formam o manto e a rede de Hartig. Externamente, há a formação de uma rede de micélio e o inchamento e ramificação das raízes curtas que têm respostas diferentes em função do fungo e do hospedeiro, conforme ilustrado na **figura 10.39**. Em relação à anatomia, não há grandes diferenças (Figura 10.39): são mais evidentes na morfologia externa das raízes. A ligação do fungo na epiderme ocorre rapidamente (em 24 horas) e uma simbiose funcional pode-se estabelecer apenas em 7 dias (Tabela 10.27).

A participação dos diferentes parceiros na associação simbiótica modifica profundamente certas etapas do metabolismo dos dois organismos causando respostas e modificações na expressão de programas genéticos de suas células, como biossíntese protéica nas células do hospedeiro, a qual é bastante modificada. O fato mais marcante observado nesse processo é o aparecimento de “novos polipeptídios” detectados somente em raízes colonizadas, denominados “ectomicorrizinas”, sintetizadas desde as primeiras horas do contato entre a raiz e o micélio. A esses polipeptídios é atribuída uma função-chave na elaboração das novas estruturas celulares no desenvolvimento da micorriza. A seqüência de eventos que leva à *formação da ectomicorriza* é abordada mais adiante.

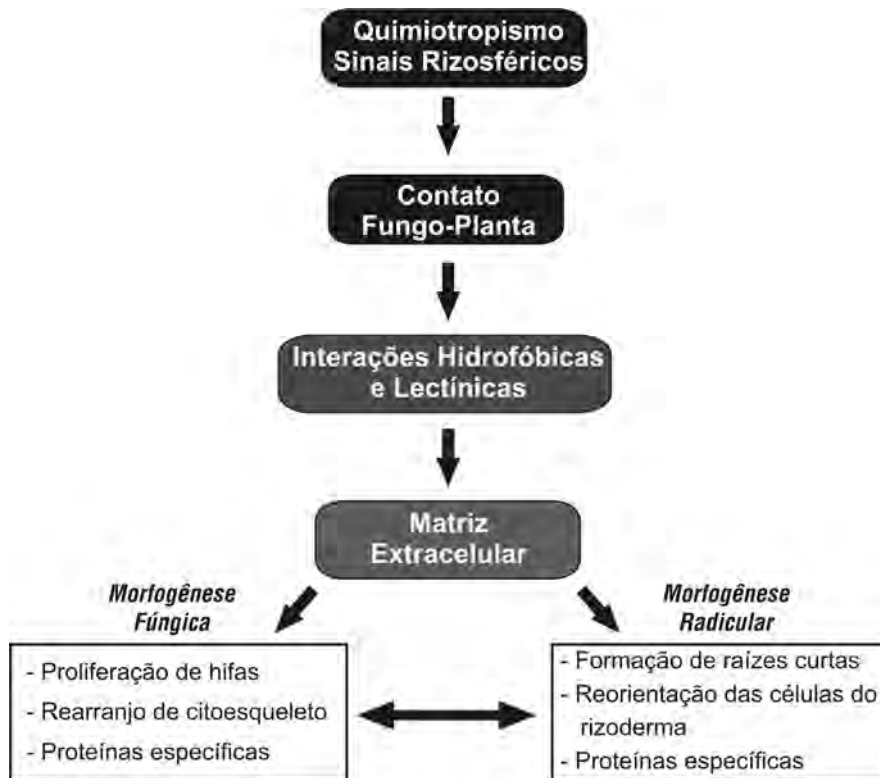


Figura 10.38. Seqüência de mecanismo que acompanha a morfogênese de uma ectomicorriza. (Martin & Tagu, 1995.)

Tabela 10.27. Tempo requerido para a formação da ectomicorriza de *Eucalyptus globulosus*-*Pisolithus* spp-441 em placas de Petri (Martin et al., 1995).

Tempo	Fases de desenvolvimento	Características anatômicas
0-12 horas	Pré-infecção	Contato da hifa com a raiz.
12-24 horas	Início da simbiose	Aderência do fungo na epiderme.
24-48 horas	Colonização pelo fungo	Primeiras camadas do manto. Penetração da hifa entre as células da epiderme.
48-96 horas	Diferenciação da simbiose	Proliferação da rede de Hartig.
96 horas-7 dias	Simbiose funcional	Manto fúngico bem desenvolvido e aderido nas células epidérmicas. Término do crescimento da rede de Hartig.

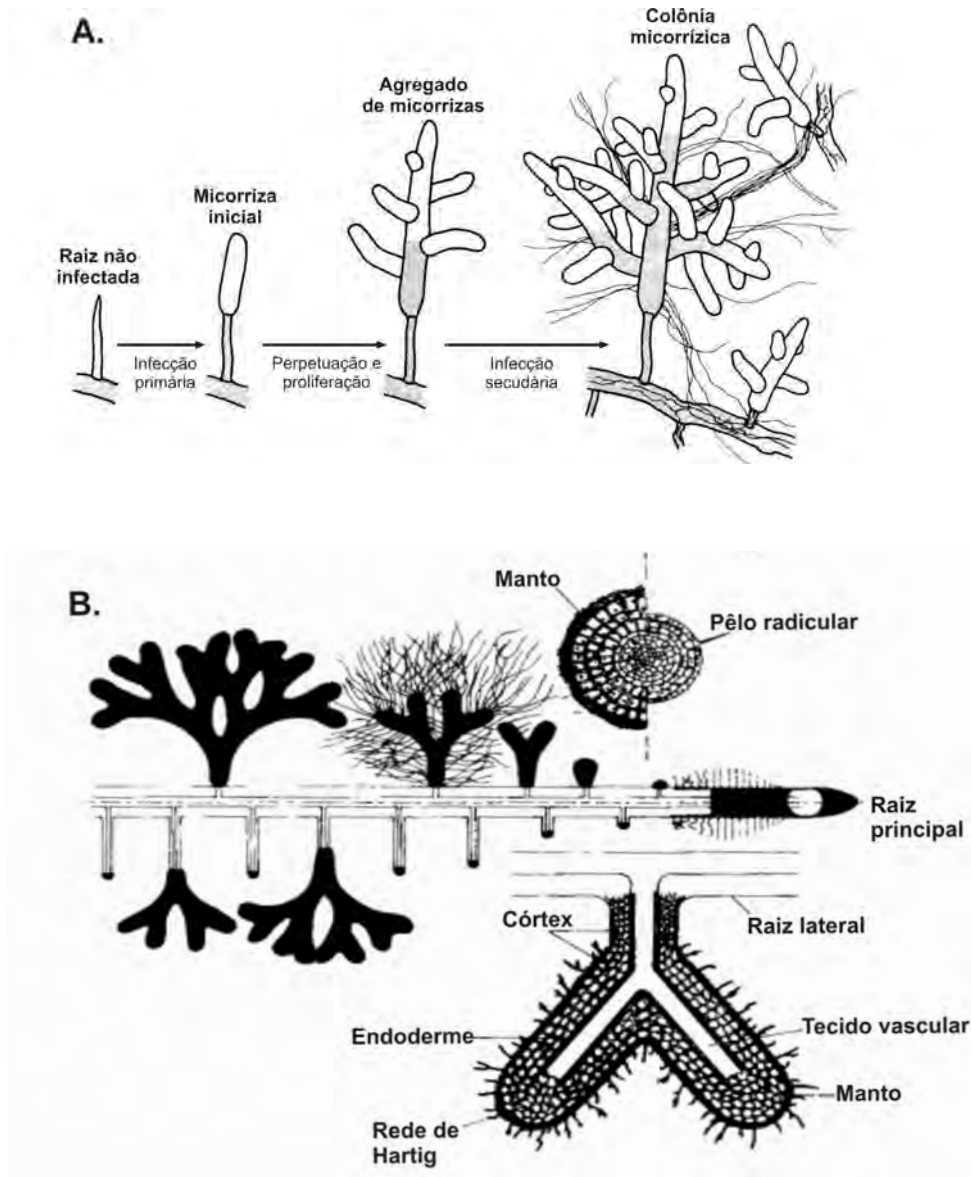


Figura 10.39. Ilustração interpretativa do desenvolvimento de radículas de eucalipto micorrizadas (A) e morfologia e detalhes anatômicos de segmentos de Pinos colonizados (B). (Chilvers & Gust, 1982, e Hatch, 1937 *apud* Siqueira e Franco, 1988.)

Ontogênese estrutural

As primeiras fases implicadas na formação de ectomicorrizas são: o contato da superfície da raiz pelas hifas, sua proliferação e o início da formação do manto ao redor das raízes. Verifica-se uma rápida mudança no modo de crescimento do micélio, desde seu contato com a superfície radicular, destacando-se a multiplicação de ramificações das hifas, o aumento do seu diâmetro e a formação de sinais específicos, na superfície radicular, como resultado do envolvimento de sinais moleculares envolvidos na quimiodiferenciação do fungo. O contato inicial (etapa de reconhecimento) entre os parceiros simbióticos caracteriza-se pela produção pelo fungo de fibrilas de polissacarídeos. Essas fibrilas têm papel essencial nos fenômenos de reconhecimento ou de ligação das hifas na superfície radicular. Uma vez que o fungo se estabelece nas raízes, inicia-se sua alteração morfológica, como ilustrada na figura 10.39. Nota-se que existe uma zona da raiz, onde ocorre a interação efetiva com o fungo, denominada ZIM-zona de infecção micorrízica, correspondendo ao local da raiz onde o fungo penetra e inicia o processo de colonização que culminará com a formação do novo órgão simbiótico, a micorriza. Os segmentos micorrizados desenvolvem-se, e ao atingir a maturidade, entram num processo de senescência, e uma nova colonização deve iniciar em outra radícula jovem. A formação de estruturas fúngicas multicelulares, como manto e rede de Hartig, é a reação fenotípica mais visível da diferenciação fúngica, sendo característica dessa simbiose. A iniciação da formação do manto ectomicorrízico implica uma agregação rápida de hifas e uma diferenciação celular que causará uma organização dessa estrutura multicelular e funcionalmente importante. Para assegurar as trocas bidirecionais que garantem a funcionalidade da relação simbiótica entre os parceiros, as células fúngicas, da interface na rede de Hartig, apresentam características de células de transferência. Estas são caracterizadas por um número elevado de organelas, tais como retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias, pela presença de invaginações na parede e por hifas multinucleadas. As invaginações chegam a aumentar dez vezes a superfície de contato e são o sítio de acúmulo de retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias. A ausência de septação das hifas confere à rede de Hartig uma estrutura uniforme e extensiva que permeia todo o córtex (Figura 10.39B). Essa estrutura amplia a área de contato entre as células epidérmicas e corticais da raiz e as fúngicas, facilitando as trocas de materiais. As células do córtex são separadas durante a progressão da rede de Hartig, indicando a existência de compartimentos celulares modificados pela ontogênese micorrízica. A membrana plasmática não é essencialmente aumentada em relação ao crescimento do micélio, mas, observações microscópicas indicam que a sua composição é modificada, apresentando, por exemplo, elevada atividade das enzimas ATPase e de fosfatases ácidas.

Modificações físico-químicas das paredes celulares vegetais são também observadas durante o desenvolvimento das ectomicorrizas. A penetração do fungo e a formação da rede de Hartig implicam modificações estruturais das paredes das células corticais, o que resulta no acúmulo de compostos pécticos nas células corticais na interface entre os dois simbiotes, melhorando a penetração das hifas nas raízes. O fungo induz modificações como hidrólise de materiais pécticos da lamela média, permitindo-lhe atravessar a cutícula suberizada da parede celular externa das células epidérmicas.

Modificações bioquímicas e genéticas

Além das modificações morfológicas, ultra-estruturais, ocorrem alterações bioquímicas e fisiológicas durante a formação das micorrizas e há também modificações na expressão gênica dos dois parceiros. A ocorrência de um perfil protéico próprio dos tecidos simbióticos confirma a existência de polipeptídeos preexistentes nas células radiculares ou fúngicas não simbióticas e modificações na biossíntese de algumas proteínas específicas, destacando-se:

- decréscimo na concentração de dezenas de polipeptídeos;
- acúmulo de um número limitado de polipeptídeos;
- surgimento de polipeptídeos específicos detectados nos tecidos simbióticos.

Os polipeptídeos induzidos durante o desenvolvimento da ectomicorriza, evidentes em diversas combinações fungo-planta, exibem características comuns como polipeptídeos ácidos de 30-32 kDa conforme mostrado na **figura 10.40**. Esses polipeptídeos são ausentes nas raízes, expressos em baixa intensidade no fungo assimbiótico e abundantes e sintetizados desde as primeiras horas de contato entre os simbiontes, expressando-se com grande intensidade na micorriza, evidenciando seu envolvimento no

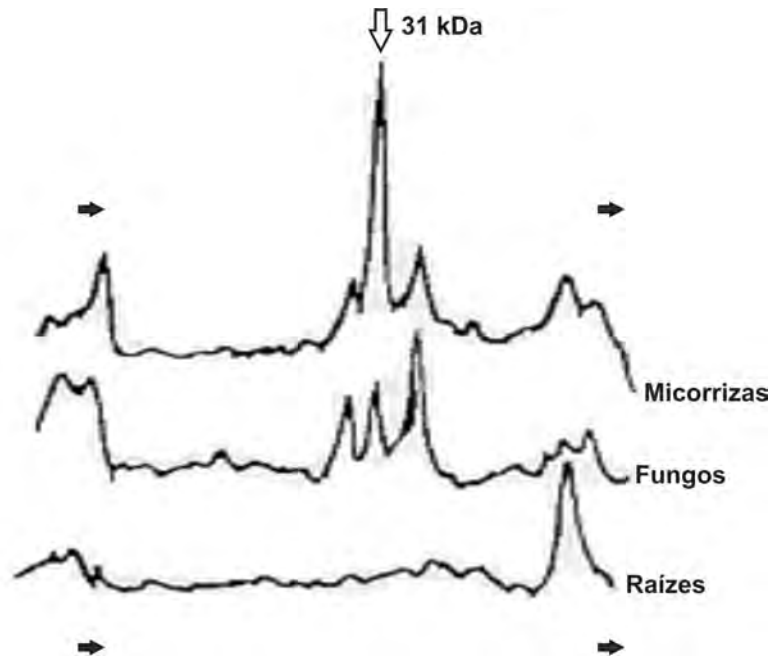


Figura 10.40. Densitogramas de proteínas parietais de raízes de *Eucalyptus globulus* do micélio de *Pisolithus tinctorius* e de ectomicorrizas de *E. globulus*-*P. tinctorius* com sete dias. As proteínas foram separadas em gel de poli-acrilamida e reveladas com nitrato de prata. (Carvalho, 1996.)

processo simbiótico. Embora seu acúmulo se observe mesmo antes que as respostas fenotípicas (alterações anatômicas) características da simbiose sejam visualizadas, o papel exato desses polipeptídeos é ainda desconhecido.

A planta hospedeira também reage à presença do fungo associado, regulando certas atividades enzimáticas e a biossíntese de proteínas estruturais. Em geral, a resposta imediata da planta a uma agressão microbiana exterior é a produção de compostos que têm uma função de barreira bioquímica contra o fungo invasor, inibindo ou limitando sua penetração e crescimento. Desse modo, as células radiculares, em contato com um agressor, sintetizam polifenóis em suas paredes. Alguns deles são tóxicos para o fungo e inibem a síntese de enzimas essenciais à penetração, como a celulase. Acredita-se que somente os fungos ectomicorrízicos resistentes à presença dos fenóis penetrem na raiz e formem a rede de Hartig no córtex. De qualquer modo, como já discutido para as MAs, a reação da planta hospedeira é atenuada nas relações mutualistas.

Proteínas apresentando semelhança imunológica com aquelas implicadas na patogenicidade (proteínas PRs) são também observadas nas ectomicorrizas. Elas são bem conhecidas nas interações planta-patógeno e geralmente localizadas nos espaços intercelulares da planta, sendo, por consequência, secretadas através do plasmalema. Normalmente, são enzimas conhecidas, como a 1,3-glicanases e quitinases sintetizadas pelas plantas para sua defesa, como ocorre nas MAs. As quitinases degradam a parede fúngica e as 1,3-glicanases, em sinergia com as quitinases, hidrolisam os polímeros de 1,3-glicanos da parede fúngica, inibindo seu crescimento. Em micorrizas de *Eucalyptus globulus-Pisolithus tinctorius* verificou-se que a atividade da quitinase radicular é fortemente estimulada pela presença do fungo, mostrando, portanto, a existência de mecanismos de reconhecimento e de resposta da planta hospedeira. Esse sistema é um modelo adequado para estudos de regulação da expressão gênica, por ter resposta facilmente induzida e manipulada em condições assépticas. Em resumo, o processo de ontogênese das ectomicorrizas compreende quatro fases principais:

- a) *uma fase de pré-contato*, na qual os dois parceiros trocam mediadores químicos (sinais moleculares);
- b) *uma fase de reconhecimento* entre as células dos parceiros simbióticos;
- c) *um período de diferenciação* que corresponde à formação dos tecidos diferenciados típicos das micorrizas;
- d) *uma fase de atividade simbiótica*, quando os tecidos apresentam todas as características de um órgão funcional, com características bidirecionais e natureza mutualística.

Em uma micorriza funcional a planta, além de dar suporte físico ao fungo, fornece-lhe fotoassimilados e nutrientes, o que, em compensação, a protege de fatores externos e auxilia na absorção de nutrientes e água. Para manter um balanço fisiológico, ocorrem alterações marcantes na fisiologia do hospedeiro, na interface solo-planta, com a criação de uma forte barreira física e química que protege a planta contra patógenos, além de funcionar como um filtro químico. Todas essas alterações constituem mecanismos com forte influência na resposta da planta hospedeira. Ao se estabelecer nas raízes o fungo causa um forte dreno de fotoassimilados da planta (**Figura 10.41A**) e, para com-

pensar, ela interfere de modo regulado aumentando a fotossíntese. As ectomicorizas representam um grande dreno de C fotoassimilado pelas árvores, estimado em cerca de 15% da fotossíntese líquida total delas ou 20 a 25% da respiração das raízes. Desse modo existe uma relação muito estreita entre a taxa de fotossíntese e a produção de corpos de frutificação do fungo simbiótico (**Figura 10.41B**). As ectomicorizas, portanto, representam um sistema complexo e multitrófico de grande importância para a ecologia e resiliência do ecossistema.

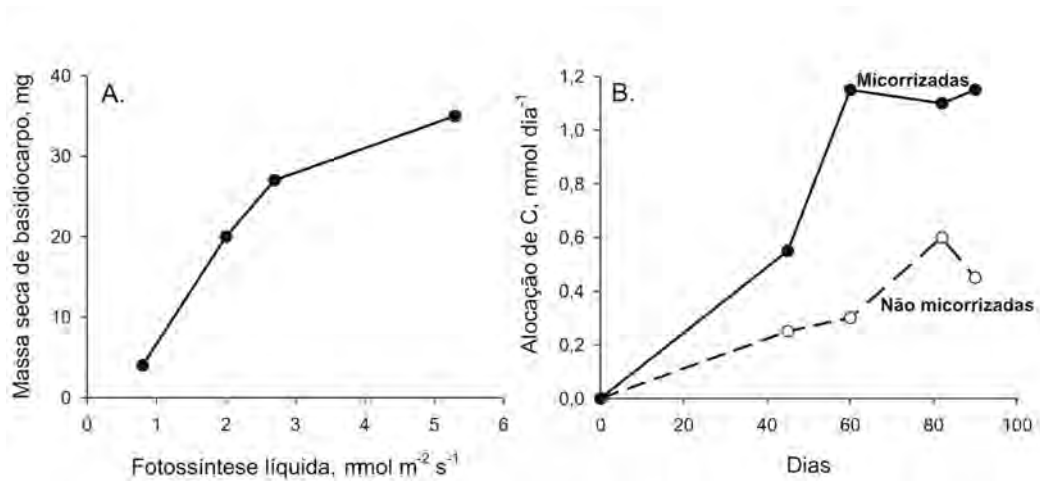


Figura 10.41. Relação entre a fotossíntese e a produção de basidiocarpo de *Laccaria bicolor* em *Pinus strobus* (A) e alocação de carbono em mudas de *Salix viminalis* com e sem micorizas (B). De Lamhamedi et al. (1994) e Jones et al. (1991) *apud* Smith & Read (1997).

10.4.5. Efeitos no crescimento da planta hospedeira

A simbiose ectomicorrízica favorece a absorção, translocação e utilização de nutrientes e água para compensar o forte dreno de fotoassimilados que o fungo causa à planta hospedeira. Há também modificações na taxa de crescimento e longevidade das raízes absorventes, assim como efeitos indiretos sobre o solo e a microbiota associada na micorrizosfera. Além das alterações morfológicas das raízes que resultam da produção de substâncias reguladoras do crescimento, o estabelecimento da associação causa profundas alterações fisiológicas, como: vacuolização das células corticais, deposição de taninos na endoderme, diferenciação do xilema, redução no crescimento das raízes micorrizadas, aumento na taxa de fotossíntese e respiração da planta e aumento na síntese de proteínas. Essas alterações têm relações diretas ou indiretas com os efeitos da micorrização sobre as plantas.

Os benefícios proporcionados resultam em melhoria do crescimento das plantas, além de favorecer seu estabelecimento em locais normalmente impróprios a seu crescimento. Em vista desses benefícios, o interesse por tais associações intensificou-se muito no final do século passado, existindo vasta literatura sobre os efeitos das ectomicorrizas no crescimento das plantas, como alguns exemplos de resposta à inoculação em diferentes situações apresentadas na **tabela 10.28**. Para outros exemplos e informações adicionais, consultar Smith & Read (1997).

Os efeitos no crescimento são diversos e resultantes de vários mecanismos, podendo ser agrupados em nutricionais e não nutricionais (**Tabela 10.29**) e como conseqüências desses, as plantas com ectomicorrizas apresentam:

- a) melhor desenvolvimento inicial e sobrevivência;
- b) menores danos causados pelos estresses abióticos ambientais;
- c) maior tolerância ao ataque de patógenos;
- d) melhor produtividade em locais adversos ao crescimento.

Destaca-se que além do favorecimento na formação das mudas, o efeito da sua sobrevivência no campo, que pode atingir benefícios até de 160% sobre as não inoculadas, em certas condições. Esses benefícios variam diretamente com o grau de estresse que as plantas colonizadas sofrem. O insucesso na introdução de certas espécies de árvores micotróficas, como a de espécies exóticas, ou do plantio para a recuperação de solos degradados, é relacionado à não introdução de fungos ectomicorrízicos selecionados ou à inexistência de isolados compatíveis com essas plantas. Essa é uma evidência real da importância da associação para a ecologia e a silvicultura.

Apesar da baixa ocorrência nas famílias de plantas, as ectomicorrizas predominam nas famílias que pertencem às espécies mais empregadas na silvicultura mundial, como Fagaceae (gêneros *Fagus* e *Quercus*), Pinaceae (gêneros *Pinus*, *Pseudotsuga* e *Picea*) e Myrtaceae (gênero *Eucalyptus*). Os povoamentos dessas plantas ocupam, geralmente, solos de baixa fertilidade onde as micorrizas desempenham função importante na formação, produtividade e sustentabilidade das florestas comerciais e, por isso, tem sido objeto de estudos intensivos em várias partes do mundo. A ocorrência, assim como a importância das ectomicorrizas para as florestas tropicais nativas, ainda não foi estudada em detalhes, com exceção das florestas onde Dipterocarpaceae são abundantes (e.g. Indonésia e África). Apesar da baixa presença de hospedeiros nesses ecossistemas, acredita-se que tais associações, juntamente com as MAs, tenham função importante na ciclagem de nutrientes e na sustentação do ecossistema floresta, tendo em vista que a associação exerce grande influência na transformação, absorção e ciclagem do carbono e de nutrientes no sistema solo-planta, além de amenizar o impacto de estresses bióticos e abióticos (Smith & Read, 1997).

Tabela 10.28. Exemplos de respostas à inoculação controlada com fungos ectomicorrízicos aplicados à espécies florestais (Garbaye, 1990).

Planta-fungo	Condição	Local	Resposta*
<i>Pinus caribea-Pisolithus</i> sp.	Solo pobre, ácido	Brasil	1,6 a 2,4
<i>Pinus caribea-Pisolithus</i> sp.	Vários locais	Nigéria	1,2 a 1,8
<i>Pinus caribea-Pisolithus</i> sp.	Área desmatada	Libéria	1,5
<i>Pinus</i> sp- <i>Pisolithus</i> sp.	Solo florestal	Flórida	1,3 a 1,5
<i>Pinus virginiana-Pisolithus</i> sp.	Solo de mineração, carvão	Kentucky	3,9 a 4,3
<i>Pinus radiata-Rhizopogon</i> sp.	Solo ácido	Austrália	1,5
<i>Pinus silvestris-Lactarius rufus</i>	Solo florestal	Suécia	1,2 a 1,4
<i>Pseudotsuga menziensis-Laccaria</i> sp.	Solo ácido	França	1,2
<i>Eucalyptus urophylla-P. tinctorius</i>	Solo arenoso, pobre	Congo	1,5 a 1,6

* Efeito sobre as plantas não inoculadas.

Tabela 10.29. Efeitos e mecanismos de estímulo das ectomicorrizas no crescimento das plantas.

Tipos de Efeito/ Principal mecanismo

Nutricionais

- Aumento na absorção de nutrientes e água:
 - Maior exploração do solo através das hifas e rizomorfo e aumento de superfície e capacidade absorptiva da raiz;
 - Maior longevidade das raízes;
 - Mineralização e solubilização de nutrientes.
- Armazenagem e ciclagem de nutrientes:
 - Acúmulo de nutrientes na planta e nas raízes micorrizadas e reciclagem mais rápida.

Não nutricionais

- Proteção contra patógenos:
 - Barreira física do manto, antibiose, indução de resistência, competição e antagonismo na rizosfera.
- Maior tolerância a estresses abióticos:
 - Plantas micorrizadas são mais tolerantes a altas temperaturas, seca, acidez e toxicidade de metais.

Efeitos na absorção de nutrientes

O estabelecimento da simbiose altera a interface solo-planta, aumenta a área de exploração do solo e da serrapilheira, contribuindo para transformações e aproveitamento dos nutrientes pelas raízes. As ectomicorrizas são ativas na mineralização da matéria orgânica e na solubilização de nutrientes imobilizados no solo, aumentando sua disponibilidade e utilização e acelerando a ciclagem. As hifas exploram esses ambientes de modo mais eficiente que as raízes absorventes. Por exemplo, um raio médio de 2 μm para hifas e 200 μm para raízes, tem-se que a área de superfície por unidade de volume é 0,01 m^2 para raízes e 1 m^2 para as hifas. São necessários em torno de cem vezes mais materiais assimilados para produzir área igual de exploração de raízes em relação à das hifas. Portanto, é mais eficiente para a planta, em termos de custo energético investir em hifas, que, em raízes e, possivelmente, isso seja uma das razões para a existência dessa simbiose. As hifas crescem no solo formando micélio e rizomorfos (redes de micélio externo) que absorvem os nutrientes, em especial N, P e K, acumulando-os em seus tecidos e, posteriormente, transferindo-os para o hospedeiro. Do total de nutrientes absorvidos da solução do solo ou da serrapilheira de 50-60% de N, 80-90% de P e 60-70% de K podem-se acumular no manto fúngico onde são armazenados temporariamente antes de transferidos para a planta (**Figura 10.42**).

Em estudo sobre os efeitos da inoculação com *Pisolithus* sp. no crescimento de mudas de *Pinus caribea* em solo de cerrado adubado com doses crescentes de P, verificou-se que houve aumento significativo no crescimento da planta, sendo esse efeito essencialmente nutricional e, como mostrado na **figura 10.43**, plantas micorrizadas absorvem mais P em condições de sua deficiência. Portanto, a inoculação com fungos ectomicorrízicos representa um importante mecanismo de redução no requerimento externo de P das plantas, o que, certamente, tem grande importância para os ecossistemas florestais em solos de baixa fertilidade. No caso do estudo reportado na figura 10.43, a inoculação do *P. caribea* com *P. tinctorius* teve efeito equivalente a mais de 200 mg kg^{-1} de P aplicado no solo, evidenciando a ação biofertilizante do fungo para essa espécie de *Pinus*. Plantas com ectomicorrizas também absorvem mais N que aquelas sem o fungo. N é absorvido principalmente na forma de N-NH_4^+ , assimilado via glutamato/glutamina e translocado via xilema para a parte aérea, enquanto a sacarose originária da fotoassimilação é hidrolisada no fungo, a hexose é armazenada ou metabolizada pelo mesmo (**Figura 10.42**), representando forte dreno respiratório. Em estudo com mudas de *Pinus crustuliniforme*, a respiração total das raízes foi 20 vezes maior nas plantas inoculadas com *Hebeloma* que naquelas sem inoculação. Como visto, a micorrização aumenta a assimilação de CO_2 , mas também as perdas por respiração das raízes e hifas. Isso altera os reservatórios de C, sua qualidade e tempo de retenção no ecossistema (Rygiencz & Anderson, 1994). A quantidade de C consumida para sustentar as ectomicorrizas pode alcançar 450 $\text{kg ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, correspondendo a cerca de 10% da produção mundial de madeira. O componente fúngico através de sua biomassa, esporóforos e micélio, é responsável pela transformação de 50% do C reciclado em uma floresta de coníferas. Por isso, considera-se que nesses ecossistemas dominados por plantas ectomicotróficas, o carbono tem um ciclo heterotrófico e outro simbiótico, ambos mediados pelas micorrizas. Junto com a ciclagem de C ocorre, a de nutrientes e as raízes micorrizadas que são finas, têm reciclagem mais rápida que outros materiais orgânicos.

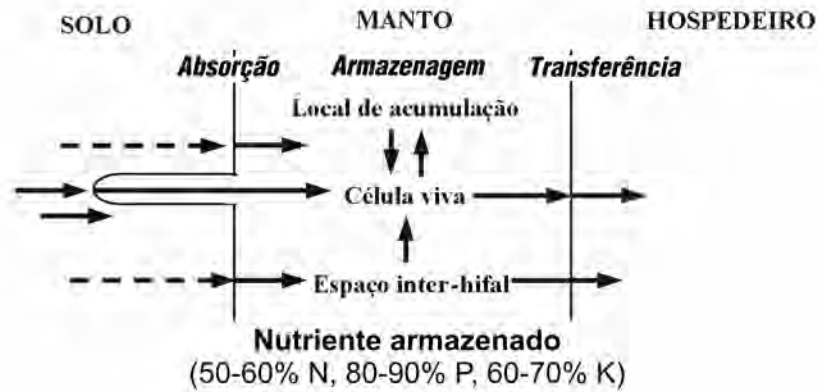
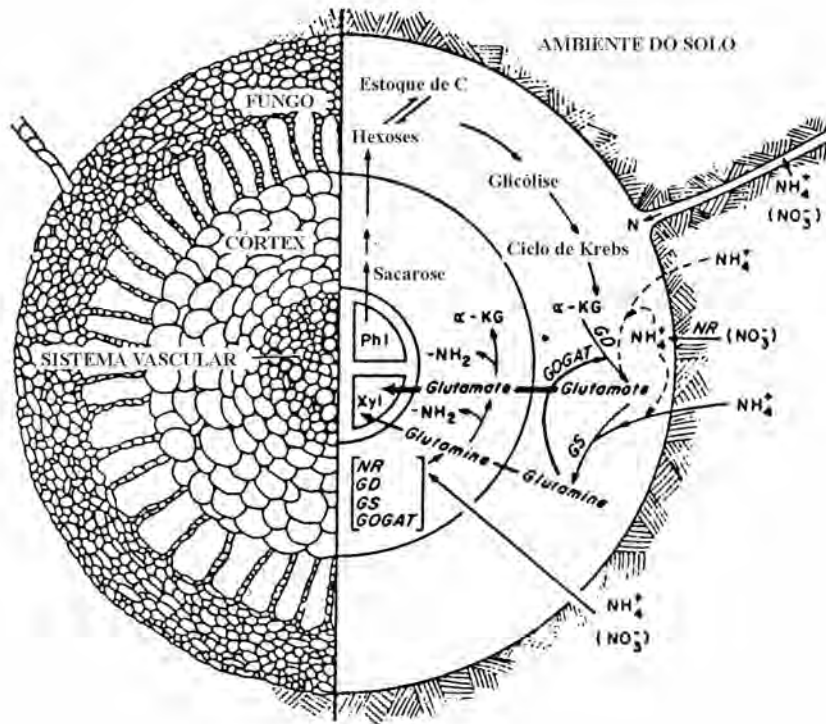


Figura 10.42. Representação esquemática da absorção, assimilação e transferência de nutrientes em ectomicorriza. (Modificado de France & Reid, 1982.)

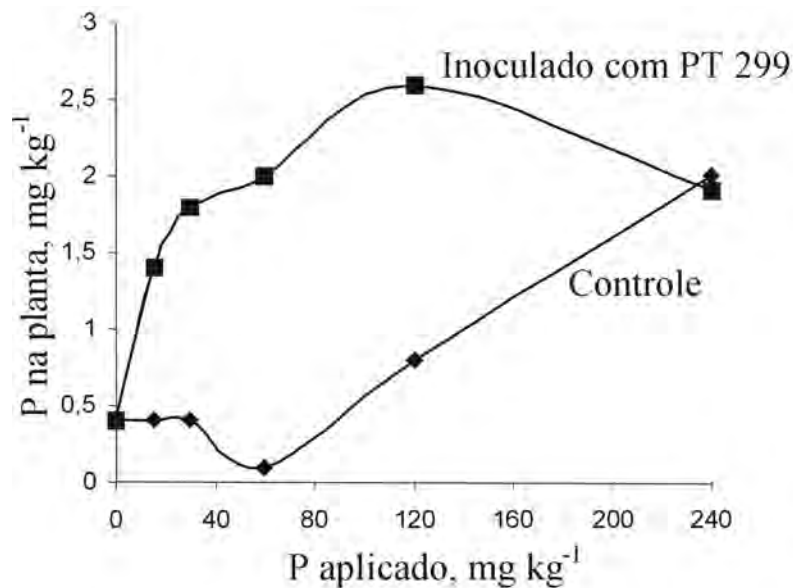


Figura 10.43. Efeito da inoculação de *Pinus caribea* com *Pisolithus* sp. (PT) nos teores de fósforo na planta. (Vieira & Peres, 1990.)

Como representam cerca de 48% da matéria orgânica em solo florestal, as micorrizas têm função crucial na regulação dos processos do sistema solo-planta.

Os corpos de frutificação são também importantes reservatórios de C, nutrientes, outros materiais como metais pesados, além de fonte de alimento para a fauna silvestre, sendo muitos dos fungos ectomicorrízicos comestíveis. Além de contribuir para a biodiversidade da fauna florestal, vários fungos ectomicorrízicos comestíveis alcançam preços elevadíssimos no mercado internacional, como as trufas (*Tuber melanosporum* e *Tuber magnatum*) que colonizam plantas dos gêneros *Pinus*, *Corylus*, *Quercus*, *Carpinus* e *Castanea*, atingem no mercado mundial de 100 a 3.250 libras esterlinas por quilograma fresco. *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* e *Tricholoma matsutake*, que também são ectomicorrízicos, podem alcançar preços superiores a 100 libras kg⁻¹. A exploração comercial de fungos ectomicorrízicos comestíveis tem despertado grande interesse na Europa e nos Estados Unidos. Para explorar isso, mudas inoculadas com o fungo desejado são levadas para o campo para frutificação, que geralmente começa após 7-10 anos de crescimento. As fazendas que praticam isso são chamadas fazendas de trufas e cogumelos, havendo indicações de que são muito rentáveis.

Amenização da toxicidade de metais

Plantas micorrizadas são mais tolerantes a diversos estresses ambientais como temperaturas, déficit hídrico e deficiências nutricionais, sendo bastante conhecida a capacidade das ectomicorrizas de proteger as plantas do excesso de Al e metais pesados, conforme exemplos apresentados na **tabela 10.30**. Os fungos micorrízicos podem alterar a sensibilidade da planta hospedeira aos metais por qualquer um dos mecanismos acima, atuando por mecanismos diretos sobre a disponibilidade e especiação dos metais ou, indiretamente, modificando processos fisiológicos na planta. A proteção ou aumento da tolerância resulta em vários mecanismos como:

- a) redução da exposição aos metais pela excreção de substâncias quelantes;
- b) imobilização extracelular pela mucilagem
- c) alterações no pH;
- d) modificação no sistema de absorção no plasmalema;
- e) destoxificação intracelular nos tecidos fúngicos.

A significância desses mecanismos varia em função do metal, da sua concentração, localização da ação adversa, do fungo e da planta envolvidos. A pesquisa atual tem enfatizado a imobilização dos metais nas estruturas fúngicas como o mecanismo mais importante de proteção. Nesse caso, o fungo atua como um filtro que retém os metais tóxicos no manto e na rede de Hartig, conforme mecanismos ilustrados na **figura 10.44**. Os metais podem ser retidos nos tecidos fungicos por vários mecanismos;

Tabela 10.30. Tolerância de plantas inoculadas (+) ou não (-) com fungos ectomicorrízicos em substratos contaminados por metais pesados (Várias fontes extraído de Graziotti et al., 2003).

Planta Hospedeira	Fungo Ectomicorrízico	Metal (μM)	Inoc	IT (%)
<i>Betula sp.</i>	<i>Amanita muscaria</i>	Zn (1500)	+	47
			-	26
<i>Betula papyrifera</i>	<i>Scleroderma flavidum</i>	Ni (85)	+	84
			-	56
<i>Pinus rigida</i>	<i>Pisolithus tinctorius</i>	Al (200)	+	97
			-	54
<i>Pinus strobus</i>	<i>Pisolithus tinctorius</i>	Al (1853)	+	82
			-	22
<i>Eucalyptus urophylla</i>	<i>Pisolithus tinctorius</i>	Ni (60)	+	61
			-	30

I = inoculação; IT (%) = [crescimento no tratamento com metal/crescimento no controle] * 100

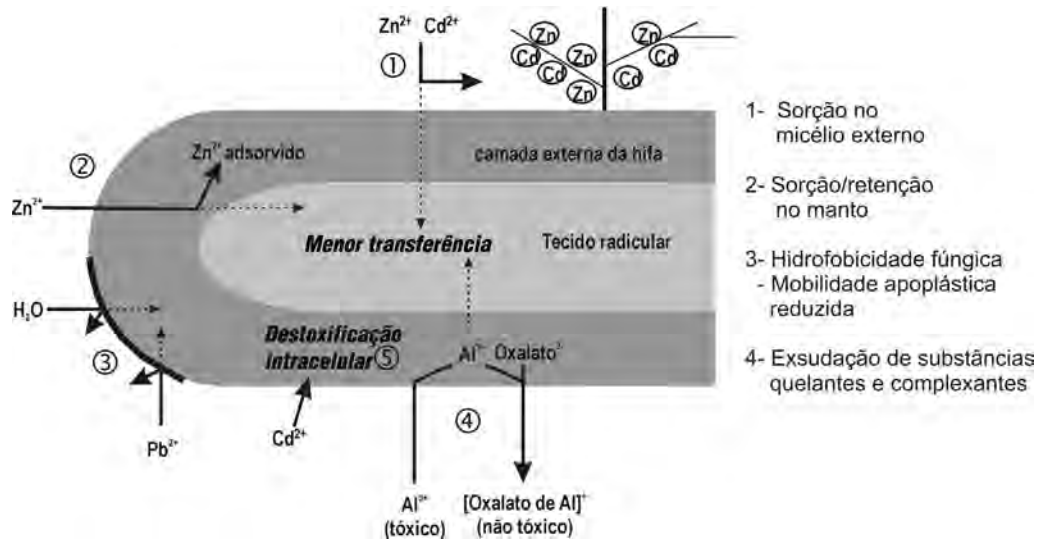


Figura 10.44 Possíveis mecanismos envolvidos na adsorção, exclusão e bioacumulação de metais relacionados à sua menor transferência para a planta em micorrizas.

ser excluídos da absorção e, se absorvidos, sofrem bioacumulação, não sendo transferidos para a planta. Em geral, plantas micorrizadas acumulam mais metal nas raízes e teores mais baixos na parte aérea, o que resulta em sua menor toxicidade para a planta (**Tabela 10.31**). No caso do estudo com *Scleroderma*, as plantas inoculadas tinham elevados teores do elemento nas raízes, porém, na parte aérea, apresentaram 16 e 62 $\mu g\ g^{-1}$ de matéria seca de Ni para inoculadas e sem inoculação respectivamente. Houve, portanto, uma redução de 75% no teor foliar e, devido à menor concentração, menor efeito tóxico para a planta. Também se deve considerar que a colonização micorrízica de mudas de árvores é sensível aos metais podendo ser muito inibida pelo seu excesso no solo (**Figura 10.45**), sendo este efeito adverso bastante generalizado. Essa inibição limita os benefícios da simbiose para a planta, havendo necessidade de selecionar isolados tolerantes. Em estudos recentes desenvolvidos na UFLA, verificou-se que entre vários isolados de *Pisolithus* sp., Pt 306 e Pt 90A apresentaram elevada tolerância a Cd e Zn em solo contaminado. Isso, no entanto, não garante o mesmo comportamento desses isolados em simbiose. Tal assunto é abordado em detalhes em Graziott et al (2003).

Os mecanismos pelos quais os fungos ectomicorrízicos promovem proteção a si próprios e às plantas que se associam, incluem processos externos às hifas (precipitação), ligação a polímeros da parede celular (quitina ou melanina) e processos internos nas células fúngicas, onde os metais podem ser complexados, compartimentalizados ou, até mesmo, volatilizados em alguns casos. A ligação por compostos extracelulares ou estruturais da parede celular tem sido estudada através de microanálises de raios X, revelando que, no manto, na rede de Hartig e no micélio extramatricial, Zn acumula-se no citoplasma, na

Tabela 10.31. Concentração de metais pesados na parte aérea e nas raízes de plantas inoculadas (+) ou não (-) com diferentes fungos ectomicorrízicos em substratos contaminados (várias fontes, extraído de Graziotti, 1999).

Planta hospedeira	Fungos ectomicorrízicos	Metal (μM)	Inoculação	Concentração	
				Parte aérea	Raízes
				----- $\mu\text{g g}^{-1}$ -----	
<i>Betula papyrifera</i>	<i>Scleroderma flavidum</i>	85 (Ni)	+	130	1200
			-	180	840
<i>Betula papyrifera</i>	<i>Scleroderma flavidum</i>	85 (Ni)	+	16	1219
			-	62	1028
<i>Pinus rigida</i>	<i>Pisolithus tinctorius</i>	200 (Al)	+	179	-
			-	383	-
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Suillus bovinus</i> NP1	14000 (Zn)	+	162	925
			-	196	273
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Suillus bovinus</i> P2	14000 (Zn)	+	150	1108
			-	196	273
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Paxillus involutus</i>	14000 (Zn)	+	104	708
			-	196	273
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Suillus bovinus</i> -Sb+Zn	3000 (Zn)	+	49	1055
			-	129	1064
<i>Picea abies</i>	<i>Laccaria laccata</i>	190 (Cd)	+	10	264
			-	26	218
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Suillus bovinus</i> [P3]	44,5 (Cd)	+	0,3	230
			-	1,2	84
<i>Pinus strobus</i>	<i>Pisolithus tinctorius</i>	927 (Al)	+	149	-
			-	292	-

() = metal estudado

parede celular das hifas ou nos espaços inter-hifas. Esse elemento liga-se, principalmente, a sítios eletronegativos nas paredes celulares das hifas e na camada gelatinosa de polissacarídeos que se desenvolve ao redor delas (hifosfera). Os fungos ectomicorrízicos também acumulam polifosfatos nos vacúolos, sendo responsáveis pela complexação de vários cátions como Al, Fe, Cu e Zn, formando grânulos fosfometálicos. Estes imobilizam os metais, evitando sua translocação e, assim, reduzindo seus efeitos fitotóxicos. Através do emprego de marcadores histoquímicos específicos, tem sido possível observar que a tolerância de *Pisolithus* a metais pesados é também devida à presença de proteínas do tipo

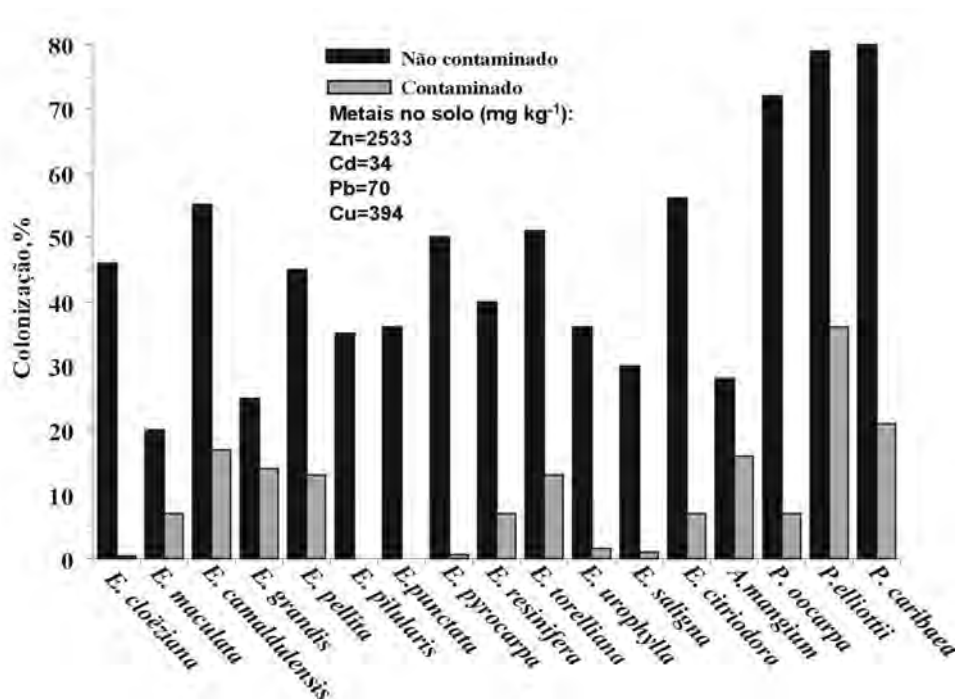


Figura 10.45 Porcentagem de segmentos radiculares colonizados por fungos ectomicorrízicos em raízes de espécies de *Eucalyptus* (E), *Pinus* (P) e *Acacia mangium* crescendo em solo contaminado por metais pesados e não contaminado. (Grazziotti, 1999.)

metalotioneínas. Estas possuem baixo peso molecular e alto conteúdo de cisteína que se ligam com alta afinidade aos metais, formando tiolatos. O complexo cobre-metalotioneínas foi também detectado em dois isolados de *Laccaria laccata* tolerantes, quando exposto a cobre, mas não em isolado menos tolerante. Esse mecanismo, entretanto, difere entre fungos e metais. Para uma abordagem mais completa do tema, consultar Graziotti et al. (2003).

Relação com patógenos do sistema radicular

As ectomicorrizas reduzem ataque de patógenos radiculares como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* e *Rhizoctonia* e também de nematóides. Devido a esse efeito, os fungos ectomicorrízicos são considerados agentes de biocontrole de doenças, cuja ação resulta de mecanismos físicos e químicos diversos, como:

- a) aumento na competição por substratos ou compostos estimulantes dos patógenos na micorrizosfera;

- b) formação de barreira física resultante do desenvolvimento do manto que envolve e protege as raízes absorventes contra a penetração ou ataque de patógenos;
- c) produção de substâncias antimicrobianas, microbiostáticas e antibióticas. Há indicações de que pelo menos 60% dos fungos ectomicorrízicos produzam, pelo menos, um antibiótico em condições experimentais;
- d) modificações no espectro e na quantidade de exsudatos que estimulam e dão sustentação à comunidade microbiana, com ação protetora ou antagonista aos patógenos;
- e) acúmulo de substâncias antimicrobianas nas células corticais, como camada de tanino, que funciona como uma barreira química contra a invasão do patógeno.

10.4.6. Aplicação das ectomicorrizas

Os benefícios das ectomicorrizas para as plantas variam em sua eficiência em função do fungo, da espécie vegetal e das condições ambientais. Como já relatado, certas espécies fúngicas podem apresentar especificidade em relação à espécie hospedeira, havendo a necessidade de estudos de seleção que permitam identificar os fungos simbioss compatíveis para determinada espécie vegetal e adequados às condições locais. A micorrização controlada é uma forma de melhorar a sobrevivência de mudas e a tolerância aos estresses e, por conseguinte, a produtividade das plantações de árvores. Os fungos ectomicorrízicos são, em sua grande maioria, saprofíticos e, por isso, podem ser multiplicados em larga escala para produção de inoculantes. A inoculação é geralmente necessária em áreas com baixa densidade populacional ou com populações de fungos pouco efetivos e naquelas isentas de fungos, como solos agrícolas, áreas de viveiro (solo desinfestado) e áreas desprovidas de árvores. As características gerais de fungos ideais para inoculação em larga escala são as seguintes:

- a) ter crescimento fácil e abundante em cultura pura;
- b) promover abundante colonização e resposta adequada no hospedeiro;
- c) ser agressivo e competitivo com outros fungos ectomicorrízicos e biota no solo;
- d) ser bem adaptado ao novo *habitat* e garantir adequada colonização por longo período;
- e) apresentar elevada compatibilidade com o hospedeiro e apresentar fecunda frutificação.

Os fungos ectomicorrízicos apresentam elevada plasticidade quanto à capacidade de ecoadaptação ao ambiente, mas são muito sensíveis à alta temperatura e à baixa umidade. A inoculação tem efeitos mais consistentes em solos e ambientes estressantes, como aqueles de mineração ou poluídos, onde plantas inoculadas têm índice de crescimento aumentado, quando se empregam fungos eficientes e adequados ao ambiente (Tabela 10.28). Em diferentes países da Europa, a resposta à inoculação com fungos ectomicorrízicos, por diferentes essências florestais e diferentes fungos, apresenta aumentos de altura que variam de 10% a mais de 400%, sendo mais freqüentes os casos onde os ganhos foram da ordem de 20%. Quando esses resultados de respostas em altura são extrapolados para o volume da parte aérea, encontram-se aumentos típicos de 40% na produtividade das árvores como resultado da

inoculação das mudas no viveiro. No caso do *Pisolithus* sp.(Pt), para se ter resposta adequada, é necessário atingir uma porcentagem mínima (índice) de colonização das raízes com esse fungo, o qual é conhecido como índice Pt, calculado pela fórmula $a = b/c$, em que a é a porcentagem de plantas com Pt, b, a porcentagem média de raízes com Pt e c, a porcentagem total de raízes micorrizadas (por todos os fungos). É comum ocorrer a substituição do Pt das raízes por outros fungos como pela *Thelephora terrestris* após certo período do transplante das mudas para o campo. Isso ocorre porque a espécie é muito bem adaptada a certos ambientes, tornando-se muito agressiva na colonização das raízes. Entretanto, *T. terrestris* é muito pouco eficiente no crescimento do hospedeiro.

No Brasil, vários estudos sobre efeitos da inoculação de *Pinus* foram desenvolvidos na década de 70, na ESALQ-USP, pelo Prof. Tasso Krugner e colaboradores, que obtiveram vários resultados positivos em campo. Eles verificaram que, quando a inoculação é praticada em solos arenosos e pobres, há necessidade de aplicar nutrientes para se obter boa resposta à inoculação. *Pisolithus* spp. tem sido a espécie mais utilizada nas inoculações de sucesso, como nas coníferas nos EUA e *Eucalyptus*, em outros países. Em muitas ocasiões, a escolha de *Pisolithus* spp. para inoculação tem sido feita sem nenhum estudo comparativo em relação a outras espécies ectomicorrízicas, chegando-se a usar isolados americanos de *Pisolithus* spp. para inoculação de plantas decíduas (não coníferas) em países tropicais. À medida que se conhece, porém, a diversidade dos fungos ectomicorrízicos em diferentes ecossistemas e regiões, fica evidente a importância de outras espécies fúngicas ectomicorrízicas com potencial para uso nas inoculações. É interessante o fato de que frutificações de *Pisolithus* são geralmente ausentes nas plantações de *Pinus* e não são comuns a todas as plantações de *Eucalyptus* nas várias partes do Brasil. Sua ocorrência se limita às áreas marginais, como nas bordas dos plantios e, geralmente, em número bem inferior ao de outros fungos, como *Scleroderma* e *Laccaria*. O fato é que os fungos ectomicorrízicos precisam ser mais estudados nos ecossistemas brasileiros.

Vários hospedeiros das ectomicorrizas têm elevada dependência à micorrização e, por isso, recomenda-se a introdução de fungos ectomicorrízicos selecionados para essas espécies nas seguintes situações:

- a) em plantios com espécies exóticas em áreas novas sem hospedeiros;
- b) na revegetação de solos degradados pela erosão, mineração, contaminação ou construção civil;
- c) em áreas despovoadas ou desprovidas de hospedeiros de ectomicorrizas;
- d) em solos e substratos inertes desinfestados e, portanto, sem propágulos e onde serão plantadas espécies hospedeiras;
- e) em áreas onde os fungos já ocorrem, mas pretende-se aumentar a densidade de inóculo ou introduzir organismos mais efetivos que os indígenas.

A introdução desses fungos pode ser feita de várias maneiras, utilizando-se inoculantes de diversos tipos e até mesmo terrço coletado em áreas povoadas, conforme resumido na **tabela 10.32**. Os inoculantes obtidos a partir do micélio fúngico, produzido em cultura axênica, são aplicados ao substrato de formação das mudas. Esse método pode ser utilizado para produção de inoculante de qualquer fungo que possa ser isolado e cultivado em meio artificial, o que se verifica para várias espécies.

Tabela 10.32. Tipos de inoculantes de fungos ectomicorrízicos e algumas considerações sobre seu uso (Marx, et al., 1992).

Tipo de inoculante	Considerações relevantes quanto à aplicação
Micélio vegetativo (cultura pura)	- Produção em escala industrial já desenvolvida - Aplicação nos canteiros e em mudas micropropagadas, encapsulação de sementes
Esporos/Basidiocarpos	- Basidiocarpos triturados e aplicados na rega, incorporados ao solo, confecção de pellets de esporos e sementes - Produção sazonal de basidiocarpos - Impossibilidade de controle genético e da qualidade
Terriço, serrapilheira e solo	- Coletado em povoamentos adultos e aplicado no canteiro (incorporado ou em cobertura) - Qualidade variável - Pode disseminar patógenos e plantas daninhas

Mais importante ainda, permite testar previamente a infectividade e eficiência dos fungos em relação à planta de interesse antes de sua introdução nos sistemas de produção de mudas. A produção de inoculantes miceliais de fungos ectomicorrízicos é feita, geralmente, numa mistura turfa-vermiculita embebida de uma solução nutritiva em frascos de vidro, ou em sacos plásticos, munidos de um dispositivo especial para aeração do meio. Além da pureza do inoculante, o micélio fica protegido entre as lâminas de vermiculita e o fungo pode sobreviver assim, até a formação das raízes curtas receptivas. A vermiculita apresenta, ainda, a vantagem de ser de baixo custo e fácil utilização. Seu pH neutro, geralmente muito elevado para o crescimento de vários fungos ectomicorrízicos, é compensado pela adição de turfa. O uso de inóculo micorrízico de fungos eficientes em espécies florestais, como o *Pisolithus* spp., oferece diversas vantagens, a saber:

- a) menor tempo de permanência no viveiro;
- b) redução dos danos causados por estresses do transporte e transplante;
- c) maior sobrevivência e crescimento inicial no campo;
- d) maior produtividade dos plantios florestais.

Apesar de algumas limitações, tais inoculantes têm sido utilizados extensivamente em alguns países, notadamente na França e nos EUA, onde se registram experiências de produção industrializada. Na França, o inoculante de *Laccaria laccata* foi produzido e utilizado comercialmente por uma associação entre um instituto de pesquisa, viveiristas e uma empresa de produção de inoculantes, mas o empreendimento teve curta duração. Nos EUA, inoculantes de *Pisolithus* spp. e de *Hebeloma crustuliniforme*

constituem a linha de inoculantes Mycortree da empresa Plant Health Care Inc., dirigida por D.H. Marx & C.E. Cordell, em Pittsburgh, PA. O custo dessa tecnologia é da ordem de US\$10,00 por 1.000 mudas. Apesar de ser técnica e economicamente viável, ainda tem uso muito limitado. Outros fungos empregados na produção de inóculo vegetativo ao redor do mundo são: *Astreus hygrometricus*, *Amanita muscaria*, *Hebeloma* sp., *Laccaria* sp., *Paxillus involtus*, *Rhizopogon* sp., *Scleroderma* sp., *Thelephora terrestris* e *Tricholoma albobrunneum*.

Uma técnica mais sofisticada para produção e aplicação desses fungos consiste no cultivo em fermentadores em meio líquido com posterior inclusão (encapsulamento) do micélio num gel, em geral alginato de cálcio, com base na técnica de imobilização de células microbianas. Estudos em viveiros demonstraram que inoculante encapsulado é mais eficiente que o sólido, apresentando maior facilidade de armazenamento e transporte e maior longevidade do fungo, permitindo, dessa forma, reduzir a quantidade a empregar para inoculação das plantas. O método é promissor, mas seu uso é ainda restrito devido a dificuldades na multiplicação dos fungos ectomicorrízicos por processos de fermentação líquida. O crescimento lento dos fungos ectomicorrízicos em comparação aos saprófitas contribui para contaminações freqüentes que inviabilizam a cultura. Esse tipo de inoculante já foi testado na Austrália e na França, onde se verifica que apenas 100 mg de micélio são suficientes para inocular 1 m² de viveiro.

Os inoculantes considerados “naturais” consistem no uso de solo e terriço de plantações e de esporos fúngicos e inoculantes micelianos ou vegetativos. Embora de baixo custo e constante disponibilidade, os inoculantes à base de solo apresentam uma série de desvantagens, destacando-se a eficiência desconhecida dos fungos introduzidos e o risco de contaminações com patógenos. No Brasil, viveiristas e reflorestadores usam “terriço” ou corpos de frutificação do fungo coletados em florestas estabelecidas para promover a micorrização das mudas no viveiro. O emprego de terriço tem eficiência e economicidade muito questionadas. Quanto aos esporos, só podem ser obtidos de fungos que esporulam em abundância e, tal como se verifica para o inoculante de solo, não permite assegurar a eficiência dos fungos empregados. Seu uso é limitado também pela frutificação esporádica de muitas espécies fúngicas. Apesar das desvantagens, os inoculantes naturais têm dado importante contribuição à silvicultura com espécies exóticas em alguns países da América Central e na África. No caso da inoculação com esporos, há, como exemplo, a produção de trufas na França, onde se inoculam as plantas colonizadas com esporos de *Tuber* spp. e as comercializam para os produtores. Na região Noroeste dos EUA, o Departamento de Agricultura (USDA) desenvolveu um programa bem sucedido de inoculação de coníferas em viveiro, usando esporos de fungos ectomicorrízicos em suspensão.

BIBLIOGRAFIA

ALLEN, M. **Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process**. Routledge: Chapman & Hall, 1992.

ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 236 p.

BRUNDETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: Australian Centre for Agricultural Research, 1996. 374 p.

MARKS G. C.; KOZLOWSKI, T. T., (Ed.). **Ectomycorrhizae, their ecology and physiology**. New York, Academic Press, 1973. 444 p.

NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: SBCS, 2000. 352 p.

POWELL, C.L.; BAGYARAJ, D.J. **VA Mycorrhiza**, Boca Raton, CRC Press, 1984. 234 p.

RAYNER, M.C. Mycorrhiza - an account of non-pathogenic infection by fungi in vascular plants and bryophytes. **New Phytologist** reprint, 15. London: Wheldon & Wesley, 1927. 246 p.

READ, D.J.; LEWIS, D.H.; FITTER, A.H.; ALEXANDER, I.J. **Mycorrhizas in Ecosystems**, Cambridge: CAB International, 1992. 419 p.

Reunião Brasileira Sobre Micorrizas, 4, Mendes, 1991. **Anais**. Itaguaí: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1991. 204p.

SAFIR, G.R., (Ed). **Ecophysiology of VA Mycorrhizal plants**. Boca Raton: CRC Press, 1987. p. 5-25.

SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1991. 371p.

SIQUEIRA, J.O., (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**, Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. 290 p.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília, MEC/ABEAS; Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 236p.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN Jr., O.J. The importance of mycorrhiza association in natural low-fertility soils. In: MACHADO, A.T.; MAGNAVACA, R.; PANDLEY, S.; SILVA, A.F., (Ed.). Proceedings International Symposium on Environmental Stress: maize in perspective. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA, 1995. p.240-280.

662 Capítulo 10 · Micorrizas

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142p.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS; Lavras: UFLA/DCS, 1999. 818p.

SMITH, E.S.; READ, J.D. **Mycorrhizal Symbiosis**. Second edition, New York: Academic Press, 1997. 605 p.

VARMA, A.; HOCK, B., (Ed.). **Mycorrhizas: structure, function, molecular biology and biotechnology**, Heidelberg: Springer, 1995. 747p.

Literatura Citada

ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. **Agriculture Ecosystems Environment**, Amsterdam, v.35, p.121-150, 1991.

ACCIOLY, A.M.A. ; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F. ; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: SBCS, 2000. p. 299-352.

AGNIHOTRI, V.P. Solubilization of insoluble phosphates by some soil fungi isolated from nursery seedbeds. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.16, p.877-880, 1970.

AKKERMANS, A.D.L.; HAHN, D.; MIRZA, S. Molecular ecology of *Frankia*: advantages and disadvantages of the use of DNA probes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.137, n.1, p.49-54, Nov. 1991.

ALABOUVETTE, C.; ROUXEL, F.; LOUVET, J. Characteristics of *Fusarium* wilt-suppressive soils and prospects for their utilization in biological control. In: SCHIPPERS, B.; GAMS, W. (Ed.). **Soil-borne plant pathogens**. London: Academic Press, 1979. p. 165-182.

ALABOUVETTE, C.; HOEPER, H.; LEMANCEAU, P.; STEINBERG, C. Soil suppressiveness to diseases induced by soilborne plant pathogens. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J-M. (Ed.) **Soil Biochemistry**. 1996. p. 371-413.

ALAZARD, D. Stem and root nodulation in *Aeschynomene* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.50, n.3, p.732-734, Mar. 1985.

ALEF, K. Enrichment, isolation and counting of soil organisms. In: ALEF, K.; NANNIPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.123-191.

ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. 2.ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1977. 467p.

ALLEN, O.N.; ALLEN, E. **The Leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation**. Wisconsin: The University of Wisconsin Press, 1981. 812p.

ALVES, B. J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.252, p. 1-9, 2003.

AMADO, T.J.C.; BAYER, C.; ELTZ, F.L.F.; BRUM, A.C.R. Potencial de culturas de cobertura em acumular carbono e nitrogênio no solo no plantio direto e a melhoria da qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.189-197, 2001.

AMANE, M. I. V.; VIEIRA, C.; NOVAIS, R. F.; ARAÚJO, G. A. A. Adubação nitrogenada e molíbdica da cultura do feijão na

664 Literatura Citada

- zona da mata de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, 1999. p. 643-650.
- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov., from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.47, n.4, p.996-1006, 1997.
- ANDERSON, J.M.; INGRAM, J.S.I. (Ed.). **Tropical Soil Biology and Fertility: a handbook of methods**, 2a ed., Wallingford: CAB International, 1993. 221 p.
- ANDERSON, J.M.; SPENCER, T. **Carbon nutrient and water balance of tropical rainforests subject to disturbance**. MAB Digest, n.7, UNESCO, Paris, France, 1991.
- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. Application of eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.2, p.251-255, 1990.
- ANDRADE, D. S.; MURPHY, P. J.; GILLER, K. E. Effects of liming and legume/cereal cropping on populations of indigenous rhizobia in an acid Brazilian Oxisol. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.34, p.477-485, 2002.
- ANDRADE, D. S.; MURPHY, P. J.; GILLER, K. E. The Diversity of *Phaseolus*-Nodulating Rhizobial Populations is Altered by Liming of Acid Soils Planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p. 4025-4034, 2002.
- ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F. de; SILVEIRA, A.P.D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* symbiosis under soybean plants. **Applied Soil Ecology**, v.26, p.123-131, 2004.
- ANÉ, J.M.; KISS, G.B.; RIELY, B.K.; PENMETS, R.V.; OLDROYD, G.E.D.; AYAX, C.; LÉVY, J.; DEBELLÉ, F.; BAEK, J.M.; KALO, P.; ROSEMBERG, C.; ROE, B.A.; LONG, S.R.; DENARIÉ, J.; COOK, D.R. *Medicago truncatula* DMI 1 required for bacterial and fungal symbioses in legumes. **Science**, Washington, v.303, p. 164-1367, 2004.
- ANGUS, J.F.; GARDNER, P.A.; KIRKEGAARD, J.A.; DESMARCHÉLIER, J.M. Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.162, p.107-112, 1994.
- APG[=Angiosperm Phylogeny group] II An update of the Angiosperm Phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.141, p.399-436, 2003.
- APPLEBY, C.A.; TJEKEMA, J.D.; TRINICK, M.J. Hemoglobin in non-leguminous plant, *Parasponia*: possible genetic origin and function in nitrogen fixation. **Science**, Washington, v.220, n.4600, p.951-953, May 1983.
- ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R.; ABARKELI, R.B. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. **Chemosphere**, v.52, p.799-804, 2003.
- ARAÚJO, R.S. Fixação biológica de nitrogênio em feijão. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 91-120.
- ARAYANGKON, T.; SCHOMBERG, H.H.; WEAVER, R.W. Nodulation and N_2 fixation of guar at high root temperature. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.126, n.2, p.209-213, Aug. 1990.
- ARSHAD, M.; FRANKENBERGER-JR., W.T. Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and function. **Advances in agronomy**, New York, v.62, p.46-151, 1998.
- ASSMUS, B.; HUTZLER, P.; KIRCHHOFF, G.; AMANN, R.; LAWRENCE, J. R.; HARTMANN, A.; In Situ localization of *Azospirillum brasilense* in the Rhizosphere of Wheat with Fluorescently Labeled, rRNA - Targeted Oligonucleotide Probes and Scanning Confocal Laser Microscopy. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 61, n. 3, p. 1013-1019, Mar. 1995.

- AYERS, W.A.; THORNTON, R.H. Exudation of aminoacids by intact and damaged roots of wheat and peas. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.28, p.193-207, 1968.
- AZEVEDO, W. R. de; FAQUIN, V.; MOREIRA, F. M. de S.; JÚNIOR, A. C. de O.; LISBOA, C. C. Efeito do Boro na nodulação da ervilha cultivada em solos de várzea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V. 37, n. 8, p. 1137-1143. Ago. 2002.
- BAKER, D. Relationships among pure cultured strains of *Frankia* based on host specificity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.70, n.2, p.245-248, June 1987.
- BAKER, D.; MULLIN, B.C. Actinorhizal symbiosis. In: STACEY, G.; BURRIS, R.; EVANS, H.J. (Ed.). **The Biology of nitrogen fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992. p.259-292.
- BAKER, D.; TORREY, J.G. Characterization of an effective actinorhizal microsymbiont, *Frankia* sp. Avcl1 (Actinomycetales). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.26, n.9, p.1066-1071, Sept. 1980.
- BAKER, D.; NEWCOMB, W.; TORREY, J.G. Characterization of an ineffective actinorhizal microsymbiont, *Frankia* sp. Eul1 (Actinomycetales). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.26, n.9, p.1072-1089, Sept. 1980.
- BAKER, K.F.; COOK, R.J. **Biological control of plant pathogens**. St. Paul: APS, 1982. 433p.
- BALANDREAU, J.; KNOWLES, R. The rhizosphere. In: DOMMARGUES, Y.R.; KRUPA, S.V. (Ed.). **Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. p.243-268.
- BALASUBRAMANIAN, A.; RANGASWAMI, G. Studies on the influence of foliar nutrient sprays on the root exudation pattern in four crop plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.30, p.210-220, 1969.
- BALCH, W.E.; FOX, G.E.; MAGRUN, L.J.; WOESE, C.R.; WOLFE, R.S. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. **Microbiological reviews**, Washington, v.43, p.260-296, 1979.
- BALDANI, J. I. **Ocorrência e caracterização de *Azospirillum amazonense* em comparação com as outras espécies deste gênero, em raízes de milho, sorgo e arroz**. 1984. 110p. Dissertação (Mestrado). Itaguaí, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.77, n.3, p.549-579, 2005.
- BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.29, n.8, p.924-929, Aug. 1983.
- BALDANI, V. L. D.; ALVAREZ, M. A. B.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. In the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 90, p.35-45, 1986.
- BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DOBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae*. gen. nov., sp. nov., a root - associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.36, n.1, p.86-93, 1986.
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F.; DOBEREINER, J. Identification and Ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the Closely Related *Pseudomonas rubrisubalbicans*. **Symbiosis**, v.13, p. 65-73, 1992.
- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, p. 911-922, 1997.

666 Literatura Citada

BALDANI, V.L.D.; OLIVEIRA, E.; BALOTA, E.; BALDANI, J.I.; KIRHHOF, G.; DOBEREINER, J. *Burkholderia brasilense* sp. nov., uma nova espécie de bactéria diazotrófica endofítica. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.69, n.1, p.116-166, mar. 1997.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, v.22, n.4, p.641-649, out./dez. 1998.

BALTHAZOR, T.B.; HALLAS, L.E. Glyphosate-degrading microorganisms from industrial activated sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.51, p.432-434, 1986.

BAPTISTA, M.J.; SIQUEIRA, J.O. Efeito de flavonóides na germinação e no crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora gigantea*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.6, n.2, p.127-134, 1994.

BARBER, D.A. Nutrient uptake. In: DOMMERGUES, Y.R.; KRUPA, S.V. (Ed.). **Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. p.131-162.

BARBER, D.A.; GUNN, K.B. The effect of mechanical forces on the exudation of organic substances by the roots of cereal plants grown under sterile conditions. **New Phytologist**, Cambridge, v.73, p.39-45, 1974.

BARBER, D.A.; MARTIN, J.K. The release of organic substances by cereal roots into soil. **New Phytologist**, Cambridge, v.76, p.69-80, 1976.

BARBERI, A.; CARNEIRO, M.A.C.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Nodulação em leguminosas florestais em viveiros no sul de Minas Gerais. **Cerne**, Lavras, v.4, n.1, p.145-153, 1998.

BARRAQUIO, W.L.; LADHA, J.K.; WATANABE, I. Isolation and identification of N₂-fixing *Pseudomonas* associated with wetland rice. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.29, n.8, p.867-873, Aug. 1983.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN; L. E. *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, Issue 8, Agosto, p.521-577, 2004.

BASU, S.; BEHERA, N. The effect of tropical forest conversion on soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 16, N.4, p.302-304, Oct. 1993.

BATTLE, M.; BENDER, M.L.; TANS, P.P.; WHITE, J.W.C.; ELLIS, J.T.; CONWAY, T.; FRANCEY, R.J. Global carbon sinks and their variability inferred from atmospheric O₂ and d¹³C. **Science**, Washington, v.287, n.31, p.2467-2470, 2000.

BAUER, W.D. Infection of legumes by rhizobia. **Annual Review and Plant Physiology**, Palo Alto, v.32, p.407-449, 1981

BEARE, M.H.; NEELY, C.L.; COLEMAN, D.C.; HARGROVE, W.L. A substrate-induced respiration (SIR) method for measurement of fungal and bacterial biomass on plant residues. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.5, p.585-594, 1990.

BECKING, J.H. Global impacts of applied microbiology. In: **GIAM IV. FOURTH INTERNATIONAL CONFERENCE**, São Paulo, 1973, 40p.

BECKING, J.H. N-fixing tropical non-legumes: DOMMERGUES, Y.R.; DIEM, H.G. (Ed.). **Microbiology of tropical soils and plant productivity**. The Hague: Martinus Nijhoff, 1982. p.109-146.

BEIJERINCK, M.W. Die Bacterien der Papilionaceen-knöllchen. **Botanik Ztg.** 46, 725-735, 741-750, 757-771, 781-790, 797-804, 1888a-e.

BELLINGER, P.F.; CHROSTIANSEN, K.A.; JANSSENS, F. (1996-2005). Checklist of the Collembola of the world. Disponível em: <http://www.collembola.org>. Acesso 4 jan, 2005.

BERGENSEN, F.J. **Root nodules of legumes, structure and functions.** Botanical research studies, 1. Research studies. Chichester, 1982, 164p.

BERGENSEN, F.J.; GIBSON, A.H. Nitrogen fixation by *Rhizobium* spp. in laboratory culture media. In: DÖBEREINER, J.; BURRIS, R.H.; HOLLAENDER, A. (Ed.). **Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics.** New York: Plenum press, 1978. p.263-274.

BERNARD, N. L'évolution dans la symbiose. L'Orchidées et leur champignons commensaux. **Annals of the Science Natural Botany**, Philadelphia, v.9, 1909.

BERNDT, H.; OSTWALD, K.P.; LALUCAT, J.; SCHUMANN, C.; MAYER, F.; SCHLEGEL, H.G. Identification and physiological characterization of the nitrogen-fixing bacterium *Corynebacterium autotrophicum* GZ 29. **Archives of Microbiology**, Berlin, v.108, p.17-26, 1976.

BEWLEY, R.J.F. Field implementation of in situ bioremediation: Key physicochemical and biological factors. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.) **Soil Biochemistry.** New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p. 473-542.

BIEDERBECK, V.O.; CAMPBELL, C.A.; SMTH, A.E. Effects of long-term 2,4-D field applications on soil biochemical processes. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.16, n.3, p.257-262, 1987.

BINGEMANN, C.W.; VARNER, J.E.; MARTIN, W.P. The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.17, p.34-38, 1953.

BLAGODATSKY, S.A.; RICHTER, O. Microbial growth in soil and nitrogen turnover: a theoretical model considering the activity state of microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.30, n.13, p.1743-1755, Nov. 1998.

BLAGODATSKY, S.A.; YEVDOKIMOV, I.V.; LARIONOVA, A.A.; RICHTER, J. Microbial growth in soil and nitrogen turnover: model calibration with laboratory data. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.30, n.13, p.1757-1764, Nov. 1998.

BLOEM, J.; RUITER, P.J.; BOUNMAN, L. Soil food webs and nutrient cycling in agroecosystems. In: VAN-ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H.(Ed.) **Modern soil microbiology.** New York:Marcel Dekker Inc., 1997, p. 245-278

BODDEY, L.H.; DART, P.J.; GOI, S.R.; BALDANI, J.I. Ocorrência de bactérias diazotróficas endofíticas no cultivar Q151 de cana de açúcar cultivada na Austrália. In: ANAIS da FERTBIO 98, Caxambu, MG, 11 a 16 de outubro 1998.

BODDEY, R.M. Methods for quantification of nitrogen fixation associated with Gramineae. CRC, **Critical reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.6, n.3, p.209-266, Mar. 1987.

BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Associations of *Azospirillum* and other diazotrophs with tropical grasses. In: Non-symbiotic nitrogen fixation and organic matter in the tropics. 12th International Congress of Soil Science, New Delhi, India, 1982, p.28.

BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.; REIS, V.M. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.252, p. 139-149, 2003.

668 Literatura Citada

- BOLIN, B.; FUNG, I. The carbon cycle revisited. In: OJIMA, D. (Ed.). **"Modeling the earth system"**. Boulder, Colorado, 1992. p.151-165.
- BOLLAG, J.M. Microbial transformation of pesticides. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v.18, p.75-130, 1974.
- BOND, G.; WHEELER, C.T. Non-legume nodule systems. In: BERGERSEN, F.J. (Ed.). **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. Chichester: John Wiley and Sons, 1980. p. 185-211.
- BONETTI, R.; OLIVEIRA, L.A.; MAGALHÃES, F.M.M. *Rhizobium* populations and mycorrhizal associations in some plantations of forest tree species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.137-142, 1984.
- BONFANTE, P.; PEROTTO, S. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. **New Phytologist**, Cambridge, v.130, n.1, p.3-21, May 1995.
- BOTTOMLEY, P.J. Light microscopic methods for studying soil microorganisms. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, J.S.; BOTTOMLEY, P.S. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 2- Microbiological and biochemical properties. Madison: SSSA, 1994. p.81-105. (Soil Science Society of America. Book Series, 5).
- BOUCHÉ, M.B. Stratégies lombriciennes. In: LOHM, U.; PERSSON, T. (Ed.). **Soil organisms as components of ecosystems**. Stockholm, 1977. p.122-132. (Ecological Bulletins, 25).
- BOWEN, G.D. Nutrient status effects on the loss of amides and amino acids from pine roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.30, p.139-142, 1969.
- BOWEN, G.D.; ROVIRA, A.D. Microbial factor in short-term phosphate uptake studies with plant roots. **Nature**, London, v.211, n.5049, p.665-666, Aug. 1966.
- BOYD, S.A.; MORTLAND, M.M. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1990. v. 6, p.1-28.
- BOYLE, M.; FRANKENBERGER Jr., W.T.; STOLZY, L.H. The influence of organic matter on soil aggregation and water infiltration. **Journal of Production Agriculture**, Madison, v.2, n.4, p.290-299, 1989.
- BREMNER, J.M.; MCCARTY, G.W. Inhibition of nitrification in soil by allelochemicals derived from plants and plant residues. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1993. v. 8, p.181-218.
- BRENCIC, A.; WINANS, S. C.; Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Vol. 69, Issue 1, March 2005, 155-194.
- BRESSAN, W. **Micorriza, fósforo e nitrogênio no sorgo e soja consorciados**. 1996. 160p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BRODER, M.W.; WAGNER, G.H. Microbial colonization and decomposition of corn, wheat and soybean residue. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.52, n.1, p.112-117, Jan./Feb. 1988.
- BROMILOW, R.H.; EVANS, A.A.; NICHOLLS, P.H.; TODD, A.D.; BRIGGS, G.G. The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years. **Pesticide Science**, Oxford, v.48, n.1, p. 63-72, Sept. 1996.
- BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. Measurement of microbial phosphorus in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.14, p.319-329, 1982.

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

BROUGHTON, W.J.; DEAKIN, W.J.; FLORES, M.; KRISHNAN, H.B.; MARIE, C.; MAVIBGUI, P.; PALACIOS, R.; PRET, X.; VIPREY, V. Organizational, transcriptional and functional analysis of the *Rhizobium* sp. NGR234 genome. In: PEDROSA, F.O.; HUNGRIA, M.; YATES, M.G.; NEWTON, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.271-274.

BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advances in Ecological research**, London, v.21, p.171-313, 1991.

BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.L.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. **Working mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: Australian Center for Agricultural Research, 1996. 374p.

BRYERS, J.D. The biotechnology of interfaces. **Journal of Applied Bacteriology Symposium**, v. 74, p.98S-109S, 1993. Supplement.

BULLOW, J.F.W. von; DÖBEREINER, J. Potential for nitrogen fixation in maize genotypes in Brazil. **Proceedings of the National Academic Science**, Philadelphia, v.72, p.2389-2393, 1975.

BUMPUS, J.A. White rot fungi and their potential use in soil bioremediation processes. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1993. v. 8, p. 65-100.

BURNS, R.G. **Soil enzymes**. London: Academic Press, 1978. 274p.

BURNS, R.G. Interaction of microorganisms, their substrates and their products with soil surfaces. In: ELLWOOD, D.C. et al. (Ed.). **Adhesion of microorganisms to soil surfaces**. New York: Academic Press, 1979. p.109-138.

BURNS, R.G. Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids. In: HUANG, P.M.; SCHNITZER, M. (Ed.) **Interactions of soil minerals with natural organic and microbes**. Madison: Soil Science Society of America, Inc. 1986. p. 429-451

BURNS, R.G. Microbial and enzymatic activities in soil biofilms. In: CHARACKLIS, W.G.; WILDERER, P.A. (Ed.). **Structure and function of biofilms**. London: John Wiley & Sons, 1989. p. 333-350.

BURNS, R.G.; HARDY, R.W.F. **Nitrogen fixation in bacteria and higher plants**. Springer-Verlag, New York, 1975, 190p.

BURNS, R.G.; MARTIN, J.P. Biodegradation of organic residues in soil. In: MITCHELL, M.J.; NAKAS, J.P. (Ed.). **Microfloral and faunal interactions in natural and agrosystems**. The Netherlands, Martinus, 1986. p. 37-202.

BUTLER, E.J. The occurrence and systematic position of the arbuscular-vesicular arbuscular type of mycorrhizal fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.22, p.274-301, 1939.

CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J. F. Mexican experience with *Azospirillum* application for the maize crop. In: 22nd LATIN-AMERICAN CONFERENCE ON RHIZOBIOLGY- RELAR. **Programme and abstracts...** Miguel Pereira, Rio de Janeiro 13-15 de Setembro 2004 p. 31

CABALLERO-MELLADO, J.; MARTÍNEZ-AGUILAR, L.; PAREDES-VALDEZ, G.; SANTOS, P.A E. de los, *Burkholderia unamae* sp. nov., an N₂-fixing rhizospheric and endophytic species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, p. 1165-1172, 2004.

670 Literatura Citada

CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E.A.; WILDNER, L.P.; COSTA, M.B.B.; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T.J.C. **Adubação verde no Brasil**. 2.ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 346p.

CALLAHAN, D.; DEL-TREDICI, P.; TORREY, J.G. Isolation and cultivation in vitro of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia*. **Science**, Washington, D.C., v.199, p.899-902, 1978.

CAMARGO, F.A.O.; GIANELLO, C.; RHEINHEIMER, D.S.; KAMINSKI, J.; BISSANI, C.A. Fracionamento do N, P e S orgânicos. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999a. 491p.

CAMARGO, F.A.O.; GIANELLO, C.; TEDESCO, M.J.; VIDOR, C. Nitrogênio orgânico do solo. In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e Subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999b. p. 117-138.

CAMPELO, A.B.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de *Derxia* sp. em solos de alguns Estados Brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.5, p.327-332, 1970. (Seção Solos)

CAMPO, R. J. e HUNGRIA, M. Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja. EMBRAPA-Soja-Londrina, 26. **Circular Técnica EMBRAPA-Soja**, 32p., 2000.

CAMPOS, B. C. de.; GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:69-76, 2006.

CANNON, F.C.; DIXON, R.A.; POSTGATE, J.R.; PRIMROSE, S.B. Chromosomal integration of *Klebsiella* nitrogen fixation genes in *Escherichia coli*. **Journal of General Microbiology**, v.80, n.1, p. 227-239, 1974.

CANNON, F.; BEYNON, J.; BUCHANAN-WOLLASTON, V. Progress in understanding organization and expression of nif genes in *Klebsiella*. In: EVANS, H.J.; BOTTOMLEY, P.J.; NEWTON, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation research progress**. Martinus Nijhoff, Dordrecht, 1985. p. 453-469.

CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Ed.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira do Solo, 1992. 360p.

CARNEIRO, M.A.C. **Características bioquímicas do solo em duas cronseqüências de reabilitação em áreas de mineração de bauxita**. 2000. 166p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; DAVIDE, A.C.; GOMES, L.J.; CURI, N.; VALE, F.R. do. Fungo micorrízico e superfosfato no crescimento de espécies arbóreas tropicais. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.50, p.21-36, dez. 1996.

CARÚ, M. Characterization of native *Frankia* strains isolated from Chilean shrubs (Rhamnaceae). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.157, n.1, p.137-145, Nov. 1993.

CARVALHO, D. Aspectos bioquímicos da relação fungo-planta em ectomicorrizas. In: SIQUEIRA, J.O.; (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. p. 67-100.

CARVALHO, M. M. **A comparative study of response of six *Stylosanthes* species to acid soil factors with particular reference to Al**. 1978. Tese (Doutorado). University of Quesland, Queensland.

CASIDA Jr., L.E. "*Ensifer adhaerens* gen. nov., sp. nov.: a bacterial predator of bacteria in soil. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 32, p. 339-345, 1982.

CATALLO, W.J.; PORTIER, R.J. Use of indigenous and adapted microbial assemblages in the removal of organic

chemicals from soils and sediments. **Water Sciences Technology**, Oxford, v.25, n.3, p.229-237, Mar. 1992.

CATOIRA, R.; GALERA, C.; BILLY, F. de; PENMETS, R. V.; JOURNET, E.; MAILLET, F.; ROSENBERG, C.; COOK, D.; GOUGH, C.; DÉNARIÉ, J. Four Genes of *Medicago truncatula* Controlling Components of a Nod Factor Transduction Pathway. **The Plant Cell**, v. 12, p. 1647-1665, septembre 2000.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, v.14, n.2, p.125-132, maio/ago. 1990a.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, v.14, n.2, p.133-142, maio/ago. 1990b.

CAVALCANTE, V.A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.108, n.1, p.23-31, 1988.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and its 18 Phyla. **Microbiological Reviews**, Washington, v.57, n.4, p.953-994, 1993.

CAVALIER-SMITH, T. A revised six kingdoms system of life. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**. v.73, n.3, p. 203-266, 1998.

CAVALIER-SMITH, T. Only six kingdoms of life. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, Series B-Biological Sciences, v.271, n.1545, p. 1251-1262, 2004.

CERRI, C.C. Carbon pools and fluxes in Brazilian natural and agricultural systems and the implications for the global CO₂ balance. In: WORLD CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 15, 1994, Acapulco, Mexico. **Proceedings...** Acapulco, México, 1994. p.399-406.

CHEN, W.; FARIA, S. M. de; STRALIOTTO, R.; PITARD, R. M.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; CHOU, J.; CHOU, Y.; BARRIOS, E.; PRESCOTT, A. R.; ELLIOTT, G. N.; SPRENT, J. I.; YOUNG, PETER W.; JAMES, E. K. Proof that *Burkholderia* Strains Form Effective Symbioses with Legumes: a Study of Novel *Mimosa*-Nodulating Strains from South America. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 11, p. 7461-7471, Nov. 2005.

CHEN, W.-M.; LAEVENS, S.; LEE, T.-M.; COENYE, T.; De VOS, P.; MERGEAY, M.; VANDAMME, P. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.1729-1735, 2001.

CHEN, W.-M.; MOULIN, L.; BONTEMPS, C.; VANDAMME, P.; BÉNA, G.; BOVIN-MASSON, C. Legume Symbiotic Nitrogen Fixation by beta- Proteobacteria is widespread in nature. **Journal of Bacteriology**, v.185, n.24, p.7266-7272, 2003.

CHEN, W.X.; YAN, G.H.; LI, J.L. Numerical taxonomic study of fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov. **International Journal Systematic Bacteriology**, Reading, v.38, n.4, p.392-397, 1988.

CHEN, W.X.; LI, G.S.; QI, Y.L.; WANG, E.T.; YUAN, H.L.; LI, J.L. *Rhizobium huakuii* sp. nov. isolated from the root nodules of *Astragalus sinicus*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.41, p.275-280, 1991.

CHEN, W.X.; WANG, E.; WANG, S.; LI, Y.; CHEN, X.; LI, Y. Characteristics of *Rhizobium tianshanense* sp. nov., a moderately and slowly growing root nodule bacterium isolated from an arid saline environment in Xinjiang, People's republic of China. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.45, p.153-159, 1995.

672 Literatura Citada

CHEN, W.X.; TAN, Z.Y.; GAO, J.L.; LI, Y.; WANG, E.T. *Rhizobium hainanense* sp. nov., isolated from tropical legumes. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.47, p.870-873, 1997.

CHILVERS, G.A.; GUST, L.W. The development of mycorrhizal populations on pot-grown seedlings of *Eucalyptus st-johnii*. **New Phytologist**, Oxford, v.90, p. 677-699, 1982.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.261, n.2/3, p.209-217, 2004.

CHUEIRE, L. M. O.; BANGEL, E. V.; MOSTASSO, F. L.; CAMPO, R. J.; PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M. Classificação Taxonômica das Estirpes de Rizóbio Recomendadas para as Culturas da Soja e do Feijoeiro Baseada no Sequenciamento do Gene 16S rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.833-840, 2003.

CIAT. **Working Document**, n. 148, Colômbia, 1994.

CICERONE, R.J.; OREMLAND, R.S. Biogeochemical aspects of atmospheric methane. **Global Biogeochemical Cycles**. v.2, p.299-327, 1988.

CLINE, G.R.; KAUL, K. Inhibitory effects of acidified soil on the soybean/*Bradyrhizobium symbiosis*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.127, n.2, p. 243-249, Aug. 1990.

COCHRAN, W.G. Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number". **Biometrics**, New York, v.6, n.2, p.105-116, June 1950.

COELHO, A.M. **Balço de nitrogênio (¹⁵N) na cultura do milho (*Zea mays* L.) em um latossolo vermelho escuro fase cerrado**. 1987. 135 p. Tese (Mestrado), Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG,

COJHO, E.H.; REIS, V.M.; SCHENBERG, A.C.G.; DOBEREINER, J. Interactions of *Acetobacter diazotrophicus* with an amyolytic yeast in nitrogen-free batch culture. **FEMS Microbiological Letters**, Amsterdam, v.106, p.341-346, 1993.

COLEMAN, D.C. Compositional analysis of microbial communities: is the room in the middle? In: RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K.E. (Ed.). **Beyond the biomass**. New York: John Wiley & Sons, 1994, p. 201-220.

COOPER, R. Bacterial fertilizers ion Soviet Union. **Soils Fertilizers**, Farnham Royal, v.22. p. 327-333, 1959.

CORAZZA E.J.; SILVA, J.E.; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C. Comportamento de diferentes sistemas de manejo como fonte ou depósito de carbono em relação à vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.2, 1999.

CORNELL. Waste management Web site. Disponível em <<http://www.its.canada.com/reed/iad/pah.htm>>. Acesso em 10 abr, 1999.

CORREIA, M.E.F.; ANDRADE, A.G. Formação de serapilheira e ciclagem de nutrientes In: SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p.197-226.

COSTANZA, R.; D'ARGE, R.; DE GROOT, R.; FARBER, S.; GRASSO, M.; HANNON, B.; LIMBURG, K.; NAEEM, S.; O'NEIL, R.V.; PARUELO, J.; RASKIN, R.G.; SUTTON, P.; BELT, M. VAN DEN. The value of the world's ecosystem services and natural capital. **Nature**, London, v.387, n.6630, p.253-260, May 1997.

COUTINHO, H. L. C.; OLIVEIRA, V. M.; LOVATO, A.; MAIA, A. H. N.; MANFIO, G. P. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. *Applied Soil ecology* v. 391, p. 1-9, 1999.

- CRONQUIST, A. **Evolution and classification of flowering plants**. New York. Columbia University Press. 1988.
- CROSSLEY-Jr, D.A.; MUELLER, B. R.; PERDUE, J.C. Biodiversity of microarthropods in agricultural soils: relation to process. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.40, p.37-46, 1992.
- CRUZ-CISNEROS, R.; VALDÉS, M. Actinorhizal root nodules on *Adolphia infesta* (H.B.K.) Meissner (Rhamnaceae). **Nitrogen fixing tree research report**, v.9, p.87-89, 1991.
- CRUZ, L. M.; SOUZA, E. M. de; WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J.; PEDROSA, F. de O. 16S Ribosomal DNA Characterization of Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Banana (*Musa* spp.) and Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill). **Applied and Environmental Microbiology**, p. 2375-2379, May 2001.
- CUNHA, C. O.; FRANCO, A. A. Efeito das altas temperaturas na nodulação e crescimento de 10 leguminosas arbóreas. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 60, n.3, p. 380, 1988.
- CUNHA, C.O.; STRALIOTTO, R.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; VANDERLEYDEN, J. Complementation for nitrogen fixation of an ineffective *Phaseolus* bean hypernodulating *Rhizobium* strain. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3., 1994, Londrina. **Resumos...** Londrina, 1994. p.38.
- CUNNINGHAM, S.D.; MUNNS, D.N. The correlation between extracellular polysaccharide production and acid tolerance in *Rhizobium*. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.48, n.6, p.1273-1276, Nov./Dec. 1984.
- CURL, E.A.; TRUELOVE, B. (Ed.). **The rhizosphere**. New York: Springer-Verlag, 1986. 288p.
- CUSATO, M.S.; TORTOSA, R.D. Presence of sporangia of *Frankia* the rhizosphere of *Discaria* (Rhamnaceae). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.148, n.2, p.285-288, Jan. 1993.
- DAESCH, G.; MORTENSON, L.E. Sucrose catabolism in *Clostridium pasteurianum* and its relation to N₂ fixation. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.96, p.346-351, 1968.
- DAI, J.; BECQUER, T.; ROUILLER, J.H.; REVERSAT, G.; BERNHARD-REVERSAT, F.; LAVELLE, P. Influence of heavy metals on C and N mineralization and microbial biomass in Zn-, Pb-, Cu-, and Cd-contaminated soils. **Applied Soil Ecology**, v.25, p.99-109, 2004.
- DAKORA, F.D. Commonality of root nodulation signals and nitrogen assimilation in tropical grain legumes belonging to the tribe Phaseoleae. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.27, p.885-892, 2000.
- DAKORA, F. D. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. **New Phytologist** v.158, p. 39-49, 2003.
- DAKORA, F.D.; MUOFHE, M.L. Molecular signals involved in nodulation in the African Bambara groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc). In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL BAMBARA GROUNDNUT SYMPOSIUM, UNIVERSITY OF NOTTINGHAM, UK, 23-25 Julho, 1996, Nottingham, UK: University of Nottingham, 171-179, 1996.
- DAKORA, F.D.; JOSEPH, C.M.; PHILLIPS, D.A. Common bean root exudates contain elevated levels of daidzein and coumestrol in response to *Rhizobium* inoculation. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.6, p.665-668, 1993.
- DALTON, H.; POSTGATE, J.R. Effect of oxygen on growth of *Azotobacter chroococum* in batch and continuous cultures. **Journal of General Microbiology**, London, v.54, p.463-473, 1969.
- DANGEARD, P.A. Recherches sur les tubercles radicaux des Légumineuses. **Botaniste**, Paris, v. 13, p.1-275, 1926.

674 Literatura Citada

DAZZO, F.B.; HUBBELL, D.H. Cross reactive antigens and lectins as determinants of symbiotic specificity in the *Rhizobium*-clover association. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.30, p.1017-1033, 1975.

DEACON, J.W. **Modern mycology**. 3.ed. Oxford: Blackwell Science, 1997. 303p.

DECAENS, T.; LAVELLE, P.; JAEN, J.J.J.; ESCOBAR, G.; RIPPSTEIN, G. Impact of land management on soil macrofauna in the Oriental Llanos of Colombia. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v.30, n.4, p.157-168, 1994.

DE FARIA, M. P.; SIQUEIRA, J.O.; VALE, F.R.; CURI, N. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio e fungos micorrízicos. I. *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. **Revista Árvore**, Viçosa, v.19, n.3, p.293-307, 1995.

DEGENS, B.P.; SPARLING, G.P.; ABBOTT, L.K. Increasing the length of hyphae in a sandy soil increases the amount of water stable aggregates. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.3, n.2, p.149-159, Mar. 1996.

de LAJUDIE, P.; LAURENT-FUTELE, E.; WILLEMS, A.; TORCK, U.; COOPMAN, R.; COLLINS, M.D.; KERSTERS, K.; DREYFUS, B.; GILLIS, M. *Allorhizobium undicola* sp. nov., nitrogen-fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.48, p.1277-1290, 1998a.

de LAJUDIE, P.; WILLEMS, A.; POT, B.; DEWETTINCK, D.; MAESTROJUAN, G.; NEYRA, M.; COLLINS, M.D.; DREYFUS, B.; KERSTERS, K.; GILLIS, M. Polyphasic taxonomy of rhizobia: emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* com. nov.; *Sinorhizobium sahelii* sp. nov.; and *Sinorhizobium teranga*, sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.44, p.715-733, 1994a.

de LAJUDIE, P.; WILLEMS, A.; NICK, G.; MOREIRA, F.; MOLOUBA, F.; HOSTE, B.; TORCK, U.; NEYRA, M.; COLLINS, M.D.; LINDSTROM, K.; DREYFUS, B.; GILLIS, M. Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.48, p.369-382, 1998b.

DE-POLLI, H. **Ocorrência de fixação de $^{15}\text{N}_2$ nas gramíneas tropicais *Digitaria decumbens* e *Paspalum notatum***. 1975. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G. Biomassa microbiana: Perspectivas para o uso e manejo do solo. In: ALAVAREZ, V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P.F. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado**. Viçosa: UFV, 1996. p. 551-564.

DE-POLLI, H.; MATSUI, E.; DOBEREINER, J.; SALATI, E. Confirmation of nitrogen fixation in two tropical grasses by $^{15}\text{N}_2$ incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.9, p.119-123, 1977.

DE-POLLI, H.; SOUTO, S.M.; FRANCO, A. A. **Compatibilidade de agrotóxicos com *Rhizobium* spp. e a simbiose das leguminosas**. MINAGRI/ EMBRAPA/UANPBS, 1986.

DIAS-JÚNIOR, H.E.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; SILVA, R. Metais pesados, densidade e atividade microbiana em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.4, p. 631-640, out./dez. 1998.

DIATLOFF, A. **Queensland Journal of Agriculture and Animal Sciences**, v. 24, p. 315-321, 1967.

DICK, R.P.; BREAKWELL, D.P.; TURCO, R.F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Ed.) **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p.247-272.

DILWORTH, M.J. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum*. **Biochemica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.127, p.285-294, 1966.

- DILWORTH, M.J.; RYNNEF, G.; CASTELLI, J.M.; VIVAS-MARFISI, A.I.; GLENN, A.R. Survival and exopolysaccharide production in *Sinorhizobium meliloti* WSM419 are affected by calcium and low pH. **Microbiology**, Reading, v.45, p.1585-1593, 1999.
- DIMOND, J.B.; OWEN, R.B. Long-term residue of DDT compounds in forest soils in Maine. **Environmental Pollution**, London, v.92, n.2, p.227-230, 1996.
- DIXON, R.; KAHN, D. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. **Nature reviews**, v.2, p.621-631, 2004.
- DIXON, E.; EADY, R.R.; ESPIN, G. Analysis of regulation of *Klebsiella pneumoniae* nitrogen fixation (*nif*) gene cluster with gene fusions. **Nature**, v.286, p.128-132, 1980
- DJORDJEVIC, M.A.; REDMOND, J.W.; BATLEY, M.; ROLFE, B.G. Clovers secrete specific phenolic compounds which either stimulate or repress nod gene expression in *Rhizobium trifolii*. **EMBO Journal**, v.6, p.1173-1179, 1987.
- DOBEREINER, J. *Azobacter* em Solos Ácidos. **Boletim do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas**. n.11, 1953
- DÖBEREINER, J. Influência da cana de açúcar na população de *Beijerinckia* no solo. **Revista Brasileira Biologia**, Rio de Janeiro, v.9, n.3, p.251-258, out. 1959.
- DÖBEREINER, J. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugarcane. **Plant and soil**, Dordrecht, v.15, p.211-217, 1961.
- DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp. nov., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.1, p.357-365, 1966.
- DÖBEREINER, J. Influence of environmental factors on the occurrence of *Spirillum lipoferum* in soils and roots. In: ENVIRONMENTAL ROLE OF NITROGEN-FIXING BLUE GREEN ALGAE AND ASSYMBIOTIC BACTERIA. Ecological Bulletin, Copenhagen, v.26, p.343-352, 1978.
- DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: Endophytic N₂ fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, Campinas, v.44, n.5, p.310-313, set./out. 1992.
- DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. **Nitrogen fixing bacteria in non-leguminous crop plants**. Madison: Science technology, 1987. 155p. (Brock/Springer Contemporary Bioscience series).
- DÖBEREINER, J.; RUSCHEL, A P. Uma nova espécie de *Beijerinckia*. **Revista de Biologia**, Rio de Janeiro, v.1, n.3/4, p.261-272, 1958.
- DOBEREINER, J.; REIS, V.; LAZARINI, A.C.. New N₂ fixing bacteria in association with cereals and sugar cane. In: BOTHE, F.J.; DE BRUJIN, W.E.; NEWTON (Ed.) **Nitrogen fixation: Hundred years after**, Gustav Fischer, Stuttgart, 1988, p. 717-722. .
- DOELMAN, P. Resistance of soil microbial communities to heavy metals. In: JENSEN, V.; KJOLLER, A.; SORENSEN, L.H. (Ed.) **Microbial Communities in soil**. England: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. p.369-384.
- DOMMARGUES, Y.R. Nitrogen fixation by trees in relation to soil nitrogen economy. **Fertilizer Research**, The Hague, v.42, p.215-230, 1995.
- DOMSCH, K.H. Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in soil. In: TINSLEY, J.; DARBYSHIRE, J.F. (Ed.) **Biological processes and soil fertility**. The Hague: Martinus Nijhoff and Junk publishers, 1984. p.367-378. (Developments in plant and soil sciences, v. 11)

676 Literatura Citada

DOMSCH, K.H.; JAGNOW, G.; ANDERSON, T.H. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. **Residue Reviews**, New York, v.86, 1983.

DONG, Y.; GLASNER, J.D.; BLATTNER, F.R.; TRIPLETT, E.W. G. Genomic interspecies microarray hybridization: rapid discovery of three thousand genes in maize endophyte, *Klebsiella pneumoniae* 342, by microarray hybridization with *Escherichia coli* K-12 open reading frames. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.67, p.1911-1921, 2001.

DORAN, J.W.; PARKIN, T.B. Defining and assessing soil quality. In: J.W.DORAN; D.C.COLEMAN; D.F. BEZDICEK; B.A.STEWART (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America Proceedings, 1994. p. 3-21.

DORAN, J.W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M.A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, v.56, p.1-54, 1996.

DOYLE, J.J.; LUCKOW, A. The rest of the iceberg: Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology**, v.131, p. 900-910, 2003.

DREYFUS, B.; GARCIA, J.L.; GILLIS, M. Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen. nov. sp. nov., a stem-nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.38, p.89-98, 1988.

DUFF, R.B.; WEBLEY, D.M.; SCOTT, R.O. Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid-producing bacteria. **Soil Sciences**, Baltimore, v.95, p.105-114, 1963

DUPUY, N.; LORQUIN, J.; N'DIAYE, S.; ALAZARD, D.; GILLIS, M.; DREYFUS, B. Les *Bradyrhizobium* d'*Acacia albida* et d'*Aeschynomene* sp. bacteries photosynthetiques et non photosynthetiques. In: **Interactions Plantes Microorganismes**. Senegal: Fondation Internationale pour la Science, 1992. p.371-381.

DUXBURY, J.M.; SMITH, M.S.; DORAN, J.; JORDAN, C.; SZOTT, L.; VANCE, E. Soil organic matter as a source and sink of plant nutrients. In: COLEMAN, D.C.; OADES, J.M.; UEHARA, G. (Ed.). **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Hawaii: University of Hawaii, Hawaii, 1989. p. 33-68.

DWORKIN, M. (Ed.) **THE PROKARYOTES**, Acesso on line: <http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm>, 1999-2005.

EADY, R.R. The dinitrogen-fixing bacteria. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; CHLEIFER, K. (Ed.). **The Prokaryotes**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. v.1, chap. 22.

ECKERT, B.; WEBER, O. B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMAN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.17-26, 2001.

EDWARDS, C.A. Impact of herbicides on soil ecosystems. **Critical reviews in plant science**, Boca Raton, v. 8, n.3, p.221-257, 1989.

EGGLETON, W.G.E. Studies of the microbiology of grassland soil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.24, n.3, p.416-434, July 1934.

ENGBRECHT, J.; NEALSON, K.; SILVERMAN, M. Bacterial bioluminescence-isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*. **Cell**, v.32, n.3, p.773-781, 1983.

ESECHIE, H.A.; RODRIGUEZ, V.; ELSHAFIE, A. Biomass production, nodulation and acetylene activity of alfafa grown under salinity stress. **Journal of Plant nutrition**, New York, v.21, n.3, p.489-503, 1998.

ESTAÚN, V.; CAMPRUBÍ, A.; CALVET, C. Effects of temperature on root colonization and development of two isolates of *Glomus mossae*. In: AZCON-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. (Ed.). MYCORRHIZAS IN INTEGRATED SYSTEMS FROM GENES TO PLANT DEVELOPMENT: PROCEEDINGS OF THE FOURTH EUROPEAN SYMPOSIUM ON MYCORRHIZAS, 1996. p.428-431.

ESTRADA-DE-LOS-SANTOS, P.; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.67, n.6, p.2790-2798, 2001.

FALKOWSKI, P.; SCHOLLES, R.J.; BOYLE, E. The global carbon cycle: A test of our knowledge of earth as a system. **Science**, Washington, v.290, n. 5490, p.291-296, 2000.

FARIA, S. M. de. **Obtenção de Estirpes de Rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica:EMBRAPA Agrobiologia.Recomendação Técnica, nº 1, dez/1997 p. 1-4.

FARIA, S. M. de. **Obtenção de Estirpes de Rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica:EMBRAPA Agrobiologia.Documentos nº 116, 10 p. dez 2000.

FARIA, S. M. de. **Obtenção de Estirpes de Rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica:EMBRAPA Agrobiologia.Documentos nº 134, 16 p jan/2002.

FARIA, S. M. de.; FRANCO, A. A. **Identificação de Bactérias Eficientes na Fixação Biológica de Nitrogênio para Espécies Leguminosas Arbóreas**. Seropédica:EMBRAPA Agrobiologia. Documentos nº 158, 10 p. Out/2002.

FARIA, S. M. de.; GUEDES, R. E.. **Obtenção de Estirpes de Rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica:EMBRAPA Agrobiologia. Recomendação Técnica nº 5, dez/1999 p. 1-4.

FARIA, S.M.; LIMA, H. C. Additional studies of the nodulation status of legume species in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.200, n.2, p.185-192, Mar. 1998.

FARIA, S. M. de.; MELLO, R. B. **Obtenção de Estirpes de Rizóbio eficientes na fixação biológica de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica:EMBRAPA Agrobiologia. Recomendação Técnica nº 3, dez/1998 p. 1-4.

FARIA, S.M.; SPRENT, J.I. Legume nodule development: an evolutionary hypothesis. In: SPRENT, J.I.; MCKEY, D. (Ed.). **Advances in legume Systematics: 5. The nitrogen factor**. Kew: Royal Botanic gardens, 1994. p. 33-39.

FARIA, S.M.; DE-POLLI, H.; FRANCO, A.A. Adesivos para inoculação e revestimento de sementes de leguminosas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.169-176, fev. 1985.

FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; DE JESUS, R.M.; MENANDRO, M.S.; BAITELLO, J.B.; MUCCI, E.S.F.; DÖBEREINER, J.; SPRENT, J.I. New nodulating legume trees from South-East Brazil. **New Phytologist**, Oxford, v.98, p.317-328, 1984a.

FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; MENANDRO, M.S.; JESUS, R.M.de; BAITELLO, J.B.; AGUIAR DE, O.T.; DÖBEREINER, J. Survey on nodulation of indigenous legume trees in southeast Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.143-153, 1984b.

FARIA, S.M.; LIMA, H.C.; FRANCO, A.A.; MUCCI, E.S.F.; SPRENT, J. I. Nodulation of legume trees from SE Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.99, n.2, p.347-356, 1987.

FARIA, S.M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I.; SUTHERLAND, J.M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, Cambridge, v.111, n.4, p.607-619, Apr. 1989.

678 Literatura Citada

FARIA, S.M.; LIMA, H.C.; OLIVARES, F.L.; MELO, R.B.; XAVIER, R.P. Nodulação em espécies florestais: especificidade hospedeira e implicações na sistemática de Leguminosae. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p.667-686.

FASSBENDER, H.W. Ciclos da matéria orgânica e dos nutrientes em ecossistemas florestais dos trópicos. In: CABALAROSAND, P. (Ed.). **Reciclagem de nutrientes e agricultura de baixos insumos nos trópicos**. Ilhéus: CEPLAC/SBCS, 1985. p.203-230.

FEIGL, B.J.; SPARLING, G.P.; ROSS, D.J. Soil microbial in Amazonian soils: evaluation of methods and estimates of pool sizes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.27, n.11, p.1467-1472, Nov. 1995.

FELSOT, A.S.; SHELTON, D.R. Enhanced biodegradation of soil pesticides: Interactions between physicochemical processes and microbial ecology. In: LINN, D.M.; CARSKI, T.H.; BRUSSEAU, M.L.; CHANG, F.H. (Ed.). **Sorption and degradation of pesticides and organic chemicals in Soil**. Madison: Soil Science Society of America, 1993. p.227-251.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M.; RODRIGUES, L. da S. Bactérias diazotróficas associadas a coqueiros na região de baixada litorânea em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v. 36, nº 12, p. 1509-1517, dez 2001.

FERNANDES, M.F.; FERNANDES, R.P.M.; ANJOS, J.L.; SOBRAL, L.F.; ARAÚJO, A.S. Efeito da saturação por bases sobre a atividade de fosfatases em solo de tabuleiro costeiro cultivado com citrus. II Constantes cinéticas das enzimas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.3, p.403-410, jul./ago.1998.

FERREIRA, M. C.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; TAKEMURA, S. M.; HUNGRIA, M. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry** v.32, p. 627-637, 2000.

FERRY, J.G. Methane:small molecule, big impact. **Science**, Washington, v.278, p.1413-1414, 1997.

FIALHO, J.F.; BORGES, A.C.; BARROS, N.F. Cobertura vegetal e as características químicas e físicas e atividade da microbiota de um latossolo vermelho-amarelo e distrófico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.15, n.1, p.21-28, jan./abr. 1991.

FIGUEIREDO, M.V.B.; MEDEIROS, R.; STAMFORD, N.P.; SANTOS, C.E.R.S. Efeito da adubação com diferentes relações de potássio/magnésio no jacatupé em latossolo amarelo com *Bradyrhizobium* sp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.20, n.1, p.49-54, jan./abr. 1996.

FRANCE, R.C.; REID, C.P.P. Interactions of nitrogen and carbon in the physiology of ectomycorrhizae. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.61, n.3, p.964-984, Mar. 1982.

FRANCO, A.A.; DAY, J.M. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soils of Brazil. **Turrialba**, San José, v.30, n.1, p.99-105, ene./mar. 1980.

FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. Toxidez de manganês de um solo ácido na simbiose soja-*Rhizobium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.6, p.57-66, 1971.

FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. Response of *Phaseolus vulgaris* L. to molybdenum under acid conditions. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.45, n.6, p.144-1148, Nov./Dec. 1981

FRANCO, A. A.; MUNNS, D.N. Acidity and aluminum constraints on nodulation, nitrogen fixation, and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.46, n.2, p.296-301, Mar./Abr. 1982a.

- FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. Nodulation and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 66, p.149-160, 1982b.
- FRANK, B. Ueber die Parasiten in den Wurzelan-schwillungen der Papilionaceen. **Botanical Ztg.** v.37, p.376-387, 394-399, 1879.
- FRANK, B. Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. **Ber Deut. Bot. Ges.**, v.7, p.332-346, 1889.
- FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. **Laboratory Manual of General Microbiology**. Mc Graw-Hill Book Company, Inc New York 1928, 145 p.
- FREEMAN, C.; OSTLE, N.; KANG, H. An enzymic "latch" on global carbon store. **Nature**, London, v.409, n.6817, p.149, 2001.
- FREIRE, J.R. Important limiting factors in soil. In: ALEXANDER, M. (Ed.). **Biological nitrogen fixation: ecology, technology and physiology**. New York: Plenum Press, 1984. p.51-74.
- FREIRE, J.R. J.; VENETTI, F de J. A pesquisa com soja, a seleção de rizóbio e a produção de inoculantes no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**. v. 5, n. 1, p. 117-126, 1999.
- FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; DONZELI, V.P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.61-70, 2003.
- FREY-KLETT, P.; CHACATTE, M.; CLAUSSE, M-L.; COURRIER, S.; LE ROUX, C.; RAAIJMAKERS, J.; MARTINOTTI, M.G.; PIERRAT, J-C.; GARBAYE, J. Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. **New Phytologist**, Cambridge, v.165, p.317-328, 2005.
- FUENTES-RAMÍREZ, L. E.; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; TAPIA-HERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ-SALGADO, T.; WANG, E. T.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; CABALLERO-MELLADO, J. Novel nitrogen-fixing acetic acid bacteria *Gluconacetobacter johannae* sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.1305-1314, 2001.
- FUHRMANN, J.J. Microbial metabolism. In: SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. (Ed.). **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Schuster, 1998. p.189-217.
- FULLIN, C. A.; ZANGRANDE, M. B.; SANI, J. A.; MENDONÇA, L. F.; FILHO, N. D. Nitrogen and molybdenum fertilization in dry bean under irrigated conditions. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, 1999. p. 1145-1149.
- FURLAN, V. **International Directory of Mycorrhizologists**. 5th ed., 1993. 87p.
- GADD, G.M.; WHITE, C. Microbial treatment of metal pollution - a working biotechnology? **TIBTECH**, v.11, p.353-359, 1993.
- GAGNON, H.; IBRAHIM, K.K. Aldonic acids: a novel family of nod gene inducers of *Mesorhizobium loti*, *Rhizobium lupini* and *Sinorhizobium meliloti*. **Plant-microbe interactions**, v.11, p.988-998, 1998.
- GALIBERT, F.; FINAN, T.M.; LONG, S.R.; PUHLER, A.; ABOLA, P.; AMPE, F.; BARLOY-HUBLER, F.; BARNETT, M.J.; BECKER, A.; BOISTARD, P. The composite genome of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. **Science**, Washington, v.293, p.668-672, 2001.
- GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C.; BARROS, N.F. Biomassa microbiana de carbono e de nitrogênio de solos sob diferentes coberturas florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.21, n.3, p.361-365, jul./set. 1997.
- GAMMA-RODRIGUES, E.F.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H. Biomassa microbiana de carbono em solos

680 Literatura Citada

de Itaguaí (RJ): comparação entre os métodos de fumigação-incubação e fumigação-extração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.18, p.427-432, 1994.

GAO, J.-L.; TURNER, S.L.; KAN, F.L.; WANG, E.T.; TAN, Z.Y.; QIU, Y.H.; TEREFEWORK, Z.; YOUNG, J.P.W.; LINDSTROM, K.; CHEN, W.X. *Mesorhizobium septentrionale* sp. nov. and *Mesorhizobium temperatum* sp. nov., isolated from *Astragalus adsurgens* growing in the northern regions of China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v.5, p.2003-2012, 2004.

GARBAYE, J. Utilization des mycorhizes en sylviculture. In: STRULLU, D.G. (Ed.). **Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées**. Paris: Lavoisier, 1990. p.197-250.

GARCIA-JUNIOR, O. Microrganismos e metais. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.) **Microbiologia ambiental**. Jaguariuna: Embrapa meio ambiente, 1997, p.11-42.

GARRIT, G.M. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2a ed. Springer-Life Sciences, 2005, 2815 p.

GAUR, A.; ADHOLEYA, A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **Current Science**, v.86, n.4, p.528-534, 2004.

GAUTHIER, D.L.; DIEM, H.G.; DOMMERGUES, Y.R. Tropical and subtropical actinorhizal plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.119-136, 1984.

GERALDES, A.P.A.; CERRI, C.C.; FEIGL, B.J. Biomassa microbiana de solo sob pastagens na Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, n.1, p.55-60, jan./fev. 1995.

GERDEMANN, J.W. Vesicular-arbuscular mycorrhizal . In: TORREY, J.G.; CRARKSON, D.T. (Ed.). **The development and functions of roots**. London: Academic Press, 1975. p.575-591.

GERDEMANN, J.W.; TRAPPE, J.M. **The endogonaceae in the Pacific Northwest**. New York: The New York Botanical Garden, 1974. 76p. (Mycologia memoir, 5)

GIANFREDA, L.; BOLLAG, J.M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p.122-194.

GEURTS, R.; BISSELING, T. *Rhizobium nod* factor perception and signaling. **Plant Cell**, v.14, p. S239-S249, 2002.

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

GILLER, K.E. Use and abuse of the acetylene reduction assay for measurement of "associative nitrogen fixation". **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.6, p.783-784, 1987.

GILLER, K.E.; WITTER, E.; MCGRATH, S.P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes: a review. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, n.10, p.1389-1414, 1998.

GILLIS, M.; KERSTERS, B.; HOSTE, D.J.; KROPPENSTEDT, R.M.; STEPHAN, M.P.; TEIXEIRA, K.R.S.; DÖBEREINER, J.; DE LEY, J. *Acetobacter diazotrophicus* sp. nov. a nitrogen fixing acetic acid bacterium associated with sugar cane. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.39, p.361-364, 1989.

GILLIS, M.; VAN, T. V.; BARDIN, R. GOOR, M. ; HEBBAR, P.; WILLEMS, A.; SEGERS, P.; KERSTERS, K.; HEULIN, T.; FERNANDEZ, M. P.Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and

proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in Vietnam. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 1995, 45:274-289.

GLASS, D.J. Commercialization of soil microbial technology. In: METTING-JUNIOR, F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology**. New York: Marcel Dekker, 1992. p.595-617.

GOI, S.R.; SPRENT, J.I.; JAMES, E.K.; JACOB-NETO, J. Influence of nitrogen form and concentration on the nitrogen fixation of *Acacia auriculiformis*. **Symbiosis**, Philadelphia, v.14, p.115-122, 1992.

GOLDSTEIN, A.H. Bacterial solubilization of mineral phosphates: Historical perspective and future prospects. **American Journal of Alternative Agriculture**, v.1, n.2, p.51-57, 1986.

GOMES, N.C.M.; MENDONÇA-HAGLER, L.C.S.; SAVAIDIS, I. Metal bioremediation by microorganisms. **Reviews Microbiology**, v. 29, p. 85-92, 1998.

GONÇALVES, M.; MOREIRA, F. M. S. Specificity of the Legume *Sesbania virgata* (Caz.) Pers. and its Nodule Isolates *Azorhizobium johanna* with other Legume Hosts and Rhizobia. I. **Symbiosis**, Philadelphia, v.36, p. 57-68, 2004.

GONZÁLEZ-CHAVEZ, C.; D'HAEN, J.; VANGRONSVELD, J.; DODD, J.C. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.240, p.287-297, 2002.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M.C.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; WRIGTH, S.F.; NICHOLS, K.A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, v.130, p.317-323, 2004.

GOODFELLOW, M.; CROSS, T. Actinomycetes. In: DICKISON, C.H.; PUGH, G.J.F. (Ed.). **Biology of plant litter decomposition**. London: Academic Press, 1974. p.269-302.

GÖTTFERT, M. Signalmoleküle in der *Rhizobium*-Leguminosen Interaktion. **Forum Mikrobiology**, Belgrade, v.13, p.546-551, 1990.

GOTTSCHALK, G.J.R. **Bacterial metabolism**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1985.

GOUZOU, L.; BURTIN, G.; PHILIPPY, R.; BARTOLI, F.; HEULIN, T. Effect of inoculation with *Bacillus polymyxa* on soil aggregation in the wheat rhizosphere: preliminary examination. **Geoderma**, Amsterdam, v.56, n.1/4, p.479-491, Mar. 1993.

GRACE, C.; GRISI, B.M. Soil microbial biomass and organic matter dynamics in northern European and tropical soils at elevated temperature. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MICROBIAL ECOLOGY, 6, 1992, Spain, **Abstracts...**, p.103.

GRACIOLLI, L.A.; FREITAS, J.R.; RUSCHEL, A.P. Bactérias fixadoras de nitrogênio nas raízes, caules e folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.14, p.191-196, 1983.

GRAHAM, P.H. Identification and classification of root nodule bacteria. In: NUTMAN, P.S. (Ed.). **Symbiotic nitrogen fixation in plants**. Cambridge: Cambridge University, 1976. p.99-112. (IBP, 7)

GRAY, T.R.G.; WILLIAMS, S.T. **Soil microorganisms**. New York: Longman, 1975. 144 p.

GRAZZIOTTI, P.E. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados**. 1999. 177p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

682 Literatura Citada

GRAZZIOTTI, P.H.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso de metais pesados. In: CURI, N.; MARQUES, J.J.; GUILHERME, L.R.G.; LIMA, J.M.de; LOPES, A.S.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.) **Tópicos em Ciência do Solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa-MG, 2003, v.3, p.55-103.

GRISI, B.M. Participação da microbiota na ciclagem de nutrientes. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 4., Aguas de Lindóia. **Anais.... Águas de Lindóia: Sociedade Latino Americana de Ciência do Solo e Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 1996. CD Rom.

GUALTIERI, G.; BISSELING, T. The evolution of nodulation. **Plant Molecular Biology**, v.42, p.181-194, 2000.

GUENZI, P. Phytotoxic substances, extracted from soil. **Soil Science American Proceedings**, Madison, v.30, n.2, p.214-216, Mar./Apr. 1966.

GUERRA, J.G.M.; FONSECA, M.C.C.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H.; FERNANDES, M.S. Conteúdo de fósforo da biomassa microbiana de um solo cultivado com *Brachiaria decumbens* Stapf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.4, p.543-551, abr. 1995.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G.N.; PAREKH, L.J. Cloning of mineral phosphate solubilizing genes from (*Synechocystis*) PCC 6803. **Current Science**, Bangalore, v.74, p.1097-1099, 1998.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G.N.; PAREKH, L.J.; POOLE, P.S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.245, p.83-93, 2002.

HABTE, M.; MANJUNATH, A. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v.1, n.1, p.3-12, 1991.

HAHN, M.; MENDGEN, K. Signal and nutrient exchange at biotrophic plant-fungus interfaces. **Current Opinion in Plant Biology**, v.4, p.322-327, 2001.

HALE, M.G. Losses of organic compounds from *Arachis hypogaea* L. growing in gnotobiotic conditions. **Bulletin Association Southeastern Biologists**, v.15, p.39, 1968. Abstracts.

HALE, M.G.; FOY, C.L.; SHAY, F.J. Factors affecting root exudation. **Advances in Agronomy**, New York, v.24, p.89-109, 1971.

HALE, M.G.; MOORE, L.D.; GRIFFIN, G.J. Root exudation. In: DOMMARGUES, Y.R.; KRUPA, S.V. (Ed.). **Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. p.163-203.

HALLIDAY, J.; ABELLI, C. In: **Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture**. Cali, CIAT, 1981.

HALVERSON, L.J.; STACEY, G. Signal exchange in plant –microbe interactions. **Microbiological Review**, Washington, v.50, p.193-225, 1986.

HANSMANN, P.; MAERZ, M.; SITTE, P. Cytosymbiosis. In: **Progress in botany**. Berlin: Springer-Verlag, 1989. v.51, p.21-47.

HARDARSON, G. Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.152, n.1, p.1-17, May 1993.

HARDARSON, G.; BLISS, F. A.; CIGALES-RIVERO, M. R.; HENSON, R. A.; KIPE-NOLT, J. A.; LONGERI, L.; MANRIQUE, A.; PEÑA-CABRIALES, J. J. ; PEREIRA, P. A. A.; SANABRIA, C. A.; TSAI, S. M. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. **Plant and Soil**, v. 152, p. 59-70, 1993.

- HARLEY, J.L.; SMITH, S.E. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1983. 483 p.
- HARRIS, R.F. Effect of water potential on microbial growth and activity. In: PARR, J.; GARDNER, W.R.; ELLIOT, L.F. (Ed.). **Water potential relation in soil microbiology**. Madison: Soil Science Society America, 1981.
- HARRISON, M.J. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.361-389, 1999.
- HARRISON, M.J.; DEWBRE, G.R.; LIU, J. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. **The Plant Cell**, Rockville, v.19, p.2413-2429, 2002.
- HASELWANDTER, K.; BERRECK, M. Accumulation of radionuclides in fungi. In: WINKELMANN, G.; WINGE, D.R. (Ed.). **Metals ions in fungi**. New York: Marcel Dekker, 1994. p.259-277.
- HATTORI, T.; HATTORI, R. The physical environment in soil microbiology: an attempt to extend principles of microbiology to soil microorganisms. **Critical Reviews in Plant Microbiology**, v., p.423-461, May 1976.
- HAUSE, B.; MAIER, W. MIERSCH, O.; KRAMELL, R.; STRACK, D. Induction of jasmonate biosynthesis in arbuscular mycorrhizal barley roots. **Plant Physiology**, v.130, p.1213-1220, 2002.
- HENDERSON, V.E.; KATZNELSON, H. The effect of plant roots on the nematode populations of the soil. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.7, p.163-167, 1961.
- HENDRICKSON, O.Q.; BURGESS, D.; PERINET, P.; TREMBLAY, F.; CHATATPAUL, L. Effects of *Frankia* on field performance of *Alnus* clones and seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.150, n.2, p.295-302, Mar. 1993.
- HERNANDEZ, B.S.; FOCHT, D.D. Invalidation of the concept of slow growth and alkali production in Cowpea Rhizobia. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.48, n.1, p.206-210, Jan. 1984.
- HERRERA, M.A.; SALAMANCA, C.P.; BAREA, J.M. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizae fungi and rhizobia to recover desertified mediterranean ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, n.1, p.129-133, Jan. 1993.
- HEULIN, T. Adaptation des *Bacillus fixateurs d' azote* a la rhizosphere des graminees: une idee qui fait son chemin. **Interaction plantes - microorganismes IFS**, p. 68-82, 1992.
- HILTNER, R. Uber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. **Arb. Deut. Landw. Ges**, v. 98, p. 59-78, 1904.
- HIPKIN, C.R.; SIMPSON, D.J.; WAINWRIGHT, S.J.; SALEM, M.A. Nitrification by plants that also fix nitrogen. **Nature**, London, v.430, p.98-101, 2004.
- HODGE, A.; CAMPBELL, C.D.; FITTER, A.H. An arbuscular mycorrhizal fungi accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. **Nature**, London, v.413, n.20, p.297-299, 2001.
- HU, S.; CHAPIN III, F.S.; FIRESTONE, M.K.; FIELD, C.B.; CHIARELLO, N.R. Nitrogen limitation of microbial decomposition in a grassland under elevated CO₂. **Nature**, London, v.409, p.188-191, 2001.
- HUGUET, V.; GOUY, M.; NORMAND, P.; ZIMPFER, J. F.; FERNANDEZ, M. P. Molecular phylogeny of Myricaceae : a reexamination of host-symbiont specificity. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.34, p. 557-568, 2005.
- HUNGRIA, M. O emprego de técnicas de biotecnologia nos estudos de microbiologia do solo: Solução para velhos e

684 Literatura Citada

novos problemas. In: ALAVAREZ, V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P.F. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado**. Viçosa: UFV, 1996. p.489-504.

HUNGRIA, M.; JOSEPH, C.M.; PHILIPS, D.A. Anthocyanidins and flavonols, major *nod* gene inducers from seeds of a black seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Physiology**, n.97, p.751-758, 1991.

HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A.; SPRENT, J.I. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.149, n.3, p.103-109, Feb. 1993.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. de S.; CHUEIRE, L. M. de O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F. J.; MEGÍAS, M.. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 1515 - 1528, 2000.

HUSS-DANELL, K. Influence of host (*Alnus* and *Myrica*) genotype on infectivity, N₂ fixation, spore formation and hydrogenase activity in *Frankia*. **New Phytologist**, Oxford, v.119, n.1, p.121-127, Sept. 1991.

HUSS-DANELL, K. Actinonorrhizal symbioses and their N₂ fixation. **New Phytologist**, Oxford, v. 136, p. 375-405, 1997.

HUTTON, E.M. Melhoramento e seleção de *Leucaena* para solos tropicais ácidos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.9, p.263-274, 1984.

HYNES, R.K.; KNOWLES, R. Production of nitrous oxide by *Nitrosomonas europaea*: effects of acetylene, pH, and oxygen. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.30, p.1397-1404, 1984.

INGHAM, R.E.; TROFYMOW, J.A.; INGHAM, E.R.; COLEMAN, D.C. Interactions of bacteria, fungi, and their nematode grazers: effects on nutrient cycling and plant growth. **Ecological Monographs**, Lawrence, v.55, n.1, p.119-140, 1985.

INSAM, H. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime?. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.4, p.525-532, 1990.

JACKSON, T.A.; VOIGT, G.K. Biochemical weathering of calcium bearing minerals by rhizosphere micro-organisms and its influence on calcium accumulation in trees. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.35, p.655-658, 1971.

JANOS, D.P. Mycorrhiza applications in tropical forestry: are temperate-zone approaches appropriate? In: NG, F.S.P (Ed.) **Trees and mycorrhiza**. Kuala Lumpur: Forest Research Institute, 1988. p.133-188.

JARVIS, B.D.W.; PANKHURST, C.E.; PATEL, J.J. *Rhizobium loti*, a new species of legume root nodule bacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.32, p.378-380, 1982.

JARVIS, B.D.W.; VAN BERKUM, P.; CHEN, W.X.; NOUR, S.M.; FERNANDEZ, M.P.; CLEYET-MAREL, J.C.; GILLIS, M. Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.47, n.3, p.895-898, 1997.

JASPER, D.A.; ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Acacias respond to additions of phosphorus and to inoculation with VA mycorrhizal fungi in soils stockpiled during mineral sand mining. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.115, p.99-108, 1989.

JASTROW, D.A.; MILLER, R.M. Methods for assessing the effects of biota on soil structure. **Agriculture, ecosystems and Environment**, Amasterdam, v.34, p.279-303, 1991.

JENKINS, M.B.; VIRGINIA, R.A.; JARREL, W.M. Rhizobial ecology of the woody legume mesquite (*Prosopis glandulosa*) in the Sonorah desert. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, n.1, p.36-40, Jan. 1987.

JENKINSON, D.S.; LADD, J.M. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed.). **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, v. 5, 1981, p.415-571.

JENKINSON, D.S.; ADAMS, D.E.; WILD, A. Model estimates of CO₂ emissions from soil in response to global warming. **Nature**, London, v. 351, n.6324, p. 304-306, May 1991.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S.; WEDDERBURN, R.W.M. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. III. The relationship between soil biovolume measured by optical microscopy and the flush of decomposition caused by fumigation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.8, p.189-202, 1976.

JENSEN, H.L. Nonsymbiotic nitrogen fixation. In: BARTHOLOMEW, W.W.; CLARK, F.E. (Ed.). **Soil nitrogen**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p.436-480. Monography, 10.

JESUS, E.C.; MOREIRA, F.M.S.; FLORENTINO, L.A.; RODRIGUES, M.I.D.; OLIVEIRA, M.S. Diversidade de bactérias que nodulam siratro em três sistemas de uso da terra na Amazônia Ocidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.8, p.769-776, 2005.

JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. Survival of the microbial biomass at elevated temperatures. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 22, n.8, p.1129-1136, 1990.

JOHNSON, N.C.; PFLEGER, F.L. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. In: BETHLENFALVAY, G.J.; LINDERMAN, R.G. (Ed.). **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: American Society of Agronomy, 1992. p.71-99. (ASA. Special Publication, 54).

JOHNSTON, A.E. **The efficient use of plant nutrients in agriculture**. IACR-Rothamsted, IFAS, s/d, 14 p.

JONES, C.G.; LAWTON, J.M.; SKACHAK, M. Positive and negative effects of organisms as physical ecosystems engineers. **Ecology**, v.78, n.7, p.1946-1957, 1997.

JONG, E.; FIELD, J.A.; SPINLER, H.E.; WIJNBERG, J.B.P.A.; BONT, J.A.M. Significant biogenesis of chlorinated aromatics by fungi in natural environments. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.60, p.264-270, 1994.

JORDAN, D.C. Rhizobiaceae Conn 1938. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.D. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: Williams and Wilkins, 1984. v.1, p.234-244.

JOURAND, P.; GIRAUD, E.; BENA, G.; SY, A.; WILLEMS, A.; GILLIS, M.; DREYFUS, B.; DE LAJUDIE, P. *Methylobacterium nodulans* sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-nodule-forming and nitrogen-fixing bacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.54, p.2269-2273, 2004.

JUNGHANS, D.T.; GOMES, E.A.; GUIMARÃES, W.V.; BARROS, E.G.; ARAÚJO, E.F. Genetic diversity of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* based on RAPD-PCR analysis. **Mycorrhiza**, New York, v.7, p.243-248, 1998.

KABIR, Z.; O'HALLORAN, I.P.; FYLES, J.W.; HAMEL, C. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: Hyphal density and mycorrhizal colonization. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 192, n.2, p.285-293, 1997.

KANDELER, E.; KAMPICHLER, C.; HORAK, O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, n.3, p.299-306, Oct. 1996.

KANEKO, T.; NAKAMURA, Y.; SATO, S.; ASAMIZU, E.; KATO, T.; SASAMOTO, S.; WATANABE, A.; IDESAWA, K.; ISHIAWA, A.; KAWASHIMA, K.; KIMURA, T.; KISHIDA, Y.; KIYOKAWA, C.; KOHARA, M.; MATSUMOTO, M.; MATSUNO A.; MOCHIZUKI, Y.; NAKAYAMA, S.; NAKAZAKI, N.; SHIMPO, S.; SUGIMOTO, M.; TAKEUCHI, C.; YAMADA, M. TABATA, S. Complete

686 Literatura Citada

genome structure of the nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Mesorhizobium loti*. **DNA Research**, v. 7, Issue 6, p.331-338, 2000.

KAPE, R.; PANISKE, M.; BRANDT, S.; WERNER, D. Isoliquiritigenin, a strong *nod* gene- and glyceollin-inducing flavonoid from soybean root exudate. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.316-310, 1992.

KASSIM, G.; MARTIN, J.P.; HAIDER, K. Incorporation of a wide variety of organic carbons into soil biomass as estimated by the fumigation procedure. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 45, n.6, p.1106-1112, Nov./Dec. 1981

KEENEY, D.R. Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution. In: STEVENSON, F.J. (Ed). **Nitrogen in Agricultural Soils**. Madison: ASA Special Publication nº 22, 1982.

KEYSER, H.H.; MUNNS, D.N.; HOHENBERG, J.S. Acid tolerance of rhizobia in culture and in symbiosis with cowpea. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.43, n.4, p.719-722, July/ Aug. 1979.

KHAMMAS, K.M.; AGERON, E.; GRIMONT, P.A.D.; KAISER, P. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. **Research Microbiology**, Paris, v.140, p.679-693, 1989.

KHETAN, S.K. **Microbial pest control**. New York: Marcer Dekker, Inc., 2001. 300 p..

KIEHL, E.J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 1998. 171p.

KIMURA, M. **The neutral theory of molecular evolution**. New York: Cambridge University Press, 1983.

KIMURA, M. Anaerobic microbiology in waterlogged rice fields. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.10, p.35-138, 2000.

KIPE-NOLT, J.A.; VARGAS, H.; GILLER, K.E. Nitrogen fixation in breeding lines of *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.152, n.1, p.103-106, May 1993.

KIRCHHOF, G.; ECKERT, B.; STOFFELS, M.; BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; HARTMAN, A. *Herbaspirillum frisingense* sp. nov., a new nitrogen-fixing bacterial species that occurs in C4-fibre plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.157-168, 2001.

KIRKBRIDE-JÚNIOR, J.H. Legumes of cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.23-46, 1984.

KLAUBERG FILHO, O.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área poluída com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.125-134, 2002.

KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; SOARES, C.R.F.S.; SILVA, S. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: **Tópicos em Ciência do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa-MG, v.4, p.85-144, 2005.

KLEIN, D.A.; SALZWEDEL, J.L.; DAZZO, F.B. Microbial colonization of plant roots. In: NAKAS, J.P.; HAGEDORN, C. (Ed.). **Biotechnology of plant microbe interactions**. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990. p.189-333.

KLINGE, H. Bielanzerung von hauptnährstoffen in okowystem tropischer regenwald. **Biogeografia**, Manaus, v.7, p.59-99, 1975.

KLOEPPER, J.W. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In: METTING-JR., F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 255-274.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, n.6, p.642-644, June 1978.

KOBAYASHI, H.; RITTMAN, B.E. Microbial removal of hazardous organic compounds. **Environmental Science & Technology**, v.16, p.170-183, 1982.

KOIDE, R.T.; MOSSE, B. A history of research on arbuscular mycorrhiza. **Mycorrhiza**, New York, v.14, p.145-163, 2004.

KORHONEN, T.K.; LAAKSO, T.; ROENKOE, R.; HAAHTELA, K. In: HATTORI, ISHIDA, MARUYAMA, MORITA; USHIDA, (Ed.). **Recent advances in microbial ecology**. Tokio: Japan Scientific Societies Press, 1989. p.192-195.

KOSUTA, S.; CHABAUD, M.; LOUGNON, G.; GOUGH, C.; DÉNARIÉ, J.; BARKER, D.G.; BÉCARD, G. A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. **Plant Physiology**, v.131, p.952-962, 2003.

KRAFFCZYK, I.; TROLLDENIER, G.; BERINGER, H. Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.16, n.4, p.315-322, 1984.

KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: Williams & Wilkins, Baltimore, 1984. v.1.

KROTZKY, A.; BERGGOLD, R.; WERNER, D. Analysis of factors limiting associative N₂-fixation (C₂H₂ reduction) with two cultivars of *Sorghum nutans*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.18, n.2, p.201-207, 1986.

KULASCORYA, S.A.; ROGER, P.A.; BARRAQUIO, W.L.; WATANABE, I. **Biological nitrogen fixation by epiphytic microorganisms in rice fields**. Manila. The International Rice Research Institute (IRRI), 1980. 10p. (Research papers series, 47).

KUNISHI, H.M.; BANDEL, V.A.; MILLNER, P.D.; ANDERSON, E.A. Soil fumigation effects on growth and phosphorus uptake by corn. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.20, n.15/16, p.1545-1555, 1989.

KUPERMAN, R.G.; CARREIRO, M.M. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n.2, p.179-190, Feb. 1997.

KURDALI, F.; RINAUDO, G.; MOIROUD, A.; DOMENACH, A.M. Competition for nodulation and ¹⁵N₂-fixation between a Sp⁺ and a Sp⁻ *Frankia* strain in *Alnus incana*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.1, p.57-64, 1990.

KURTZ, W.G.; LA RUE, T.H. Nitrogenase activity in rhizobia in absence of plant host. **Nature**, London, v.256, n.5516, p.407-409, July 1975.

KUYKENDALL, L.D.; SAXENA, B.; DEVINE, T.E.; UDELL, S. Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum* and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.38, n.6, p. p.501-505, June 1992.

KUZYAKOV, Y.; FRIEDEL, J.K.; STAHR, K. Review of mechanisms and quantification of priming effects. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.32, p.1485-1498, 2000.

LACERDA, A.M.; MOREIRA, F.M.S.; ANDRADE, M.J.B.; SOARES, A.L.L.. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. **Revista Ceres**, Viçosa, v.51, n.293, p.:67-82, 2004.

LADD, J.N.; FOSTER, R.C.; NANNIPIERI, P.; OADES, J.M. Soil structure and biological activity. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p.23-78.

688 Literatura Citada

- LAL, R. Physical management of soils of the tropics: priorities for the 21st century. **Soil Science**, v.165, n.3, p.191-207, 2000.
- LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. **Geoderma**, v.123, p.1-22, 2004.
- LAMBAIS, M.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da relação fungo-planta em micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.) **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. p.5-38.
- LANGE, A.; MOREIRA, F. M. de S., Detecção de *Azospirillum amazonense* em raízes e rizosfera de Orchidaceae e de outras famílias vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p.529-533, 2002.
- LANGENBACH, T. A Bioacumulação e a persistência dos xenobiontes no ambiente. In: HUNGRIA, M.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. (Ed.). III SIMBÓCIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO. Microbiologia do solo: Desafios para o século XXI. **Anais...Londrina**, 1994. p.119-136.
- LAVELLE, P. Diversity of soil fauna and ecosystem function. **Biology International**, v.33, p.3-16, 1996.
- LAVELLE, P.; SPAIN, A.V. **Soil Ecology**. Dordrecht:Kluwer Academic Publishers, 2001, 654 p.
- LAVORENTI, A.; PRATA, F.; REGITANO, J.B. Comportamento de pesticidas em solos - Fundamentos. In: CURTI, N.; MARQUES, J.J.; GUILHERME, L.R.G.; LIMA, J.M.de; LOPES, A.S.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.) **Tópicos em Ciência do Solo**, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.3, p.335-400, 2003.
- LECHEVALIER, M.P. Taxonomy of the genus *Frankia*. In: AKKERMANS, A.D.L.; BAKER, D.; HUSS-DANEL, K.; TJPKEMA, J.D. (Ed.). **Frankia symbiosis and actinorhizal plants**. The Hague: Nijhoff/Junk Publishers, 1984. p. 1-6.
- LECHEVALIER, M.P.; RUAN, J.S. Physiology and chemical diversity *Frankia* spp. isolated from nodules of *Comptonia peregrina* (L.) Coult and *Ceanothus americanus* L. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.78, n.1/2, p.15-22, 1984.
- LESUEUR, D.; DIEM, H.G.; DIANDA, M.; LE ROUX, C. Selection of *Bradyrhizobium* strains and provenances of *Acacia mangium* and *Faidherbia albida*: Relationship with their tolerance to acidity and aluminum. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.149, n.2, p.159-166, Feb. 1993.
- LEWIS, G.; SCHRIRE, B.D. Leguminosae or Fabaceae? In: KLITGAARD, B.B.; BRUNEAU, A. (Ed.) **Advances in legume systematics**, part 10. Higher level systematics, 2003a, p. 1-3.
- LEWIS, G.; SCHRIRE, B.D.; MACKINDER, B.A.; LOCK, J.M. (Ed.). **Legumes in the world**, Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 2003b.
- LI, X. L.; MARSCHNER, H. ; GEORGE, E. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.136, n.1, p.49-57, Sept. 1991.
- LIDSTROM, M.E. The aerobic methylophilic bacteria. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. (Ed.). **The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria, ecophysiology, isolation, identification, applications**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. v.1, p. 431-445.
- LIGHTFOOT, E.N.; THORNE, P.S.; JONES, R.L.; HANSEN, J.L.; ROMINE, R.R. Laboratory studies on mechanisms for the degradation of aldicarb, aldicarb sulfoxide and aldicarb sulfone. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v.6, p.377-394, 1987.
- LIMA, A.S.; PEREIRA, J.P.A.R.; MOREIRA, F.M.S. Diversidade fenotípica e eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. de solos da Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p., 2005.

LIMA, E.; BODDEY, R.M.; DOBEREINER, J. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar cane using a ^{15}N aided nitrogen balance. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.2, p.165-170, 1987.

LINDSTRÖM, K. *Rhizobium galegae*, a new species of legume root nodule bacteria. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.39, n.3, p.365-367, 1989.

LINN, D.M.; DORAN, J.W. Effect of water-filled pores on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and non-tilled soils. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.48, p.1267-1272, 1984.

LIPMAN, J.G.; MCLEAN, H.; LINT, H.C. Sulphur oxidation in soils and its effects on the availability of mineral phosphates. **Soil Science**, Baltimore, v.1, p.533-539, 1916.

LIU, C.M.; McLEAN, P.A. SOOKDEO, C.C.; CANNON, F.C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.57, p.1799-1804, 1991.

LOCHHEAD, A.G.; CHASE, F.E. Qualitative studies of soil microorganisms. V. Nutritional requirements of predominant bacterial flora. **Soil Science**, Baltimore, v.55, p.185-195, 1943.

LOUW, H.A. A study of the phosphate dissolving bacteria in the root region of wheat and lupin. **Phytophylactica**, Pretoria, v.2, p.21-26, 1970.

LOVATO, P.E.; PEREIRA, J.C.; VIDOR, C. Flutuação populacional de *Rhizobium phaseoli* em solos com e sem calagem. **Revista brasileira de Ciência Solo**, Campinas, v.9, p.9-12, jan./abr. 1985.

LOVATO, P.E.; TROUVELOT, A.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Micorrização de plantas micropropagadas. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.) **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. p. 175-201.

LOVATO, T.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; VEZZANI, F. Adição de carbono e nitrogênio e sua relação com os estoques no solo e com o rendimento do milho em sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, p.175-187, 2004.

LOVELEY, D.R. Microbial reduction of iron, manganese, and other metals. **Advances in Agronomy**, New York, v.54, p.175-231, 1995.

LUCAS, R.E.; HOLTMAN, J.B.; CONNOR, L.G. Soil carbon dynamics and cropping practices. In: LOCKERETZ, W. (Ed.) **Agriculture and energy**. New York: Academic Press, 1977, p.333-351.

LUG, Y.; WAN, S.; HUI, D.; WALLACE, L.L. Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. **Science**, Washington, v.413, p.622-625, 2001.

LUSSENHOP, J. *Collembola* as mediators of microbial symbiont effects upon soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n.3, p.363-369, Mar. 1996.

MaC DONALD, R.M. Extraction of microorganisms from soil. **Biological Agriculture and Horticulture**, Oxon, v.3, p. 361-365, 1986.

MADSEN, E.L. A critical analysis of methods for determining the composition and biogeochemical activities of soil microbial in situ. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. v.9, p.287-370.

MAGALHÃES, F.M.M. Nitrogen-fixing bacteria isolated from diverse soils and grass roots in Amazônia. In: VOSE, P.B.;

690 Literatura Citada

- RUSCHEL, A.P. (Ed.). **Associative N₂-fixation**. Florida: CRC Press, 1981. v. 2, p.39-48.
- MAGALHÃES, F.M.M. **Caracterização e distribuição de uma nova espécie de bactéria fixadora de nitrogênio**. 1983. 89p. Dissertação (Mestrado). Convênio INPA/FUA, Manaus.
- MAGALHÃES, F.M.M. Present state of knowledge on biological nitrogen fixation in Amazônia. In: SYMPOSIUM ON THE HUMID TROPICS: climate and soil, 1., 1986. **Proceedings...**Belém: EMBRAPA/CPATU, 1986. v.1, p.499-512.
- MAGALHÃES, F.M.M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de *Azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.15, n.4, p.246-252, 1984.
- MAGALHÃES, F.M.M.; PATRIQUIN, D.; DOBEREINER, J. Infection of field grown maize with *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.39, n.3, p.587-596, ago. 1979.
- MAGALHÃES, F.M.M.; MAGALHÃES, L.M.S.; OLIVEIRA, L.A.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus-AM. **Acta Amazônica**, Manaus, v.12, p.509-514, 1982.
- MAGALHÃES, F.M.M.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M.; KUYKENDALL, J.R.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant *Azospirillum* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.55, n.4, p.417-430, dez. 1983.
- MAGALHÃES, L.M.S.; BLUM, W.E.H. Nodulação e crescimento de *Cedrelinga catenaeformis* Ducke em plantios experimentais na região de Manaus, AM. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.159-164, 1984.
- MAGALHÃES, L.S.M.; FERNANDES, N.P. Experimental stands of leguminous forests in the Manaus region. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.75-79, 1984.
- MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.. Efeitos do herbicida glifosato sobre microorganismos simbióticos de soja em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p.285-291, 2006.
- MANSOUR, S.R.; TORREY, J.G. *Frankia* spores of strain HFPCg¹⁴ inoculum for seedlings of *Casuarina glauca*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.69, n.6, p.1251-1256, June 1991.
- MARCHIORI-JUNIOR, M.; MELO, W.J. Carbono, carbono da biomassa microbiana e atividade enzimática em um solo sob mata natural, pastagem e cultura do algodoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.2, p.257-263, abr./jun.1999.
- MARGULIS, L.; SCWARTZ, K.V. **Five kingdoms: an illustrated guide to the Phyla of life on earth**, 3 ed., New York, W.H. Freeman and Company, 1998, 497 p.
- MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.159, n.1, p. 89-102, Feb. 1994.
- MARSCHNER, H.; ROMHELD, V.; KISSEL, M. Localization of phytosiderophore release and of iron uptake along intact barley roots. **Physiology Plantarum**, v.71, p.157-162, 1987.
- MARSCHNER, P.; YANG, C-H.; LIEBERE, R.; CROWLEY, D.E. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.1437-1445, 2001.
- MARTIN, F.; TAGU, D. Ectomycorrhiza development: a molecular perspective. In: HOCK B., VARMA, A.K. (Ed.). **Mycorrhiza: function, molecular biology and biotechnology**. Berlin: Springer-Verlag, 1995. p.29-57.
- MARTIN, F.; LAURENT, P.; CARVALHO, D. DE; BURGESS, T.; MURPHY, P.; NEHLS, U.; TAGU, D. Fungal gene expression during ectomycorrhiza formation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.73, p. S541-S547, 1995. Supplement, 1.

MARTIN, J.P.; FOCHT, D.D. Biological properties in soils. In: ELLIOT, L.F.; STEVENSON, F.J. (Ed.). **Soils for management of organic waste waters**. Madison: American Society Agronomy, 1977. p.115-169.

MARTINEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F.B.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P.; PARDO, M.A. *Rhizobium tropici*, a new species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. Beans and Leucaena trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.41, n.3, p.417-426, 1991.

MARTINS, L. M.V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, p. 333-339, 2003.

MARX, D.H.; MAUL, S.B.; CORDELL, C.E. Application of specific ectomycorrhizal fungi in world forestry. In: LEATHAM, G.F. (Ed.). **Frontiers in industrial mycology**. New York: Chapman Hall, 1992. p.78-98.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Tolerância de rizóbios de diferentes procedências ao zinco, cobre e cádmio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.3, p.343-355, 2002a.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Sobrevivência de *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium* em mistura de solos contaminadas com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, n.1, p. 249-256, 2002b.

MAXWELL, C.A.; HARWIG, U.A.J.; OSEPH, C.M.; PHILLIPS, D.A. A chalcone and two related flavonoids released from alfafa roots induce *nod* genes in *Rhizobium meliloti*. **Plant Physiology**, v.91, p.842-847, 1989.

MCCALLA, T.M.; HASKINS, F.A. **Microorganisms and soil structure**. Missouri: Missouri Agricultural Experimental Station, 1961. (Research Bulletin, 765).

MCKEY, D. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. In: J.I.SPRENT; McKEY (Ed) **Advances in legume systematics. Part 5: The Nitrogen Factor**. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 1994, p.211-228.

Mc CLUNG, C.R.; PATRIQUIN, D.G.; Isolation of a nitrogen-fixing *Campylobacter* species from the roots of *Spartina alterniflora* Loisel. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.6, n.8, p.881-886, Aug. 1980.

McCLUNG, C. R.; PATRIQUIN, D. G.; DAVIS, R. E. *Campylobacter nitrofigilis* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with roots of *Spartina alterniflora* Loisel. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 33, p.605-612, 1983.

MCCULLY, M.E.; BOYER, J.S. The expansion of root cap mucilage during hydration.III Changes in water potential and water content. **Physiologia Plantarum**, Denmark, v.99, p.169-177, 1997.

MEESTERS, T.M.; VAN VLIET, W.M.; AKKERMANS, D.L. Nitrogenase is restricted to the vesicles in *Frankia* strain EAN1pec. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.70, p.267-271, 1987.

MEIR, P.; GRACE, J.; MIRANDA, A.; LLOYD, J. Soil respiration in a rainforest in Amazônia and in Cerrado in central Brazil. In: GASH, J.H.C.; NOBRE, C.A.; ROBERTS, J.M.; VICTORIA, R.L. (Ed.). **Amazonia deforestation and climate**. New York, 1996. p.319-329.

MELLONI, R.; MOREIRA, F. M. S.; NÓBREGA, R. S. A.; SIQUEIRA, J. O. Eficiência e Diversidade Fenotípica de Bactérias Diazotróficas que Nodulam Caupi (*Vigna unguiculata*(L.) Walp) e Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Solos de Mineração de Bauxita em Reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, n. 2, p.235-246, 2006

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Resposta da soja à adubação nitrogenada na semeadura e inoculação com *Bradyrhizobium* em sistemas de plantio direto e convencional em latossolo da região do

692 Literatura Citada

cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.81-87, 2003.

MENDONÇA, M. DE; OLIVEIRA, V.L. DE. Micorrizas no Brasil: Estado atual das pesquisas e prioridades. In: ALVARES V., V.H.; FONTES, L.E.F.; FONTES, M.P.F. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado**. Viçosa: SBCS/UFV/DPS, 1996. p.525-549.

MENGEL, K.; STEFFENS, D. Beziehung zwischen Kationen/anionen-aufnahme von rotklee und protonenabscheidung der wurzeln. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, Weinheim, v.145, p.229-236, 1982.

MERRICK, M.J. Organization and regulation of nitrogen fixation genes in *Klebsiella* and *Azotobacter*. In: BOTHE, H.; BRUIJIN, F.J.; NEWTON, W.E.. (Ed.). **Hundred years after**. Gustav Verlag, Stuttgart, 1988. p.293-302.

MESSENS, E.; GEEDEN, D.; MONTAGU, M.W.; HOLSTERS, M. 7, 4'-dihydroxyflavanone is the major *Azorhizobium nod* gene inducing factor in *Sesbania rostrata* seedling exudate. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.4, p.262-267, 1991.

METTING JR., F.B. **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1992. 648p.

MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; VEZZANI, F.M.; LOVATO, T.; FERNANDES, F.F.; DEBARBA, L. Manejo de solo e culturas e sua relação com os estoques de carbono e nitrogênio do solo. In: CURTI, N.; MARQUES, J.J.; GUILHERME, L.R.G.; LIMA, J.M.de; LOPES, A.S.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.) **Tópicos em Ciência do Solo**, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.3, p.209-248, 2003.

MIGUEL, D.L.; MOREIRA, F.M.S. Influência do pH do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.873-883, 2001.

MILLER, I.M.; BAKER, D. Nodulation of actinorhizal plants by *Frankia* strains capable of both root hair infection and intercellular penetration. **Protoplasma**, New York, v.131, p.82-91, 1986.

MILLER, K.J.; WOOD, J.M. Osmoadaptation by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.50, p.101-136, 1996.

MILLER, R.H.; SCHMIDT, E.L. Uptake and assimilation of aminoacids supplied to sterile soil: root environment of the bean plant (*Phaseolus vulgaris*). **Soil Science**, Baltimore, v.100, p.323-330, 1965.

MILLER, R. M.; JASTROW, J.D. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. In: **Mycorrhizae in Sustainable Agriculture**. Madison: American Society of Agronomy, 1992. p.29-44.

MINCHIN, F.R.; PATE, J.S. The carbon balance of a legume and the functional economy of its root nodules. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.24, n.79, p.259-271, Apr. 1973.

MINCHIN, F.R.; WITTY, J.W.; MYTTON, L.R. Reply to "measurement of nitrogenase activity in legume root nodules: In defense of the acetylene reduction assay by J.K. Vessey. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.158, n.2, p.163-167, Jan. 1994.

MINERDI, D.; FANI, R.; GALLO, R.; BOARINO, A.; BONFANTE, P. Nitrogen fixation genes in an endosymbiotic *Burkholderia* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.67, n.2, p.725-732, 2001.

MIRANDA, J.C.C.; SOUSA, D.M.G.; MIRANDA, L.N. Influência de fungos endomicorrízicos vesicular-arbusculares na absorção de fósforo e no rendimento de matéria seca de plantas de sorgo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 8, n.1, p.31-36, jan./abr. 1984.

MIRZA, M.S.; AKKERMANS, W.M.; AKKERMANS, A.D.L. PCR-amplified 16S rRNA sequence analysis to confirm

nodulation of *Datisca cannabina* L. by the endophyte of *Coriaria nepalensis* Wall. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.160, n.1, p.147-152, Mar. 1994.

MOÇO, M.K.S.; GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; CORREIA, M.E.F. Caracterização da fauna edáfica em diferentes coberturas vegetais na região norte fluminense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.4, p.555-564, 2005.

MONTEIRO, R.T.R. Degradação de pesticidas. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Microbiologia ambiental**. Brasília: EMBRAPA-CNPMA, 1997. p.107-124.

MOORMAN, T.B. A review of pesticide effects on microorganisms and microbial processes related to soil fertility. **Journal Production Agriculture**, v.2, n.1, p.14-23, 1989.

MOORMAN, T.B.; DOWLER, C.C. Herbicide and rotation effects on soil and rhizosphere microorganisms and crop yields. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v.35, p.311-325, 1991.

MOREIRA, F.M.S. **Caracterização de estirpes de rizóbio isoladas de espécies florestais pertencentes a diversos grupos de divergência de Leguminosae introduzidas ou nativas da Amazônia e Mata Atlântica**. 1991. 160p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MOREIRA, F.M.S. Fixação biológica do nitrogênio em espécies arbóreas. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994b. p. 121-150.

MOREIRA, F.M.S. Métodos de isolamento e identificação de microrganismos associativos fixadores de N₂. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994a. p. 337-353.

MOREIRA, F.M.S. Nodulação e crescimento de 49 leguminosas arbóreas nativas da Amazônia em viveiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.581-590, 1997.

MOREIRA, F.M.S. Estirpes de bactérias altamente eficientes que fornecem nitrogênio para a caupi foram selecionadas na UFLA e já são recomendadas para produção de inoculantes comerciais. **Boletim de Extensão da UFLA**, 2005. Disponível online: [http://www.editora.ufla.br/boletins de extensão](http://www.editora.ufla.br/boletins%20de%20extensao).

MOREIRA, F.M.S. Nitrogen-fixing Leguminosae nodulating bacteria. In: MOREIRA, F.M.S. SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L.(Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallington: CABI, p. 237-270, 2006.

MOREIRA, F.M.S.; FRANCO, A.A. Goma extraída de vagens de *Parkia nitida* Miquel para inoculação e revestimento de sementes de leguminosas. **Turrialba**, San Jose, v.41, n.3, p.524-527, jun./ago. 1991.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Growth, nodulation and arbuscular mycorrhizal colonization of four woody legumes in a low fertility soil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS- THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, 1995, Angra dos Reis, RJ. **Abstracts...** Angra dos Reis, RJ, p.164-165.

MOREIRA, F. M. S., HAUKKA, K.; YOUNG, J. P. W. Biodiversity of rhizobia isolated from a wide range of forest legumes in Brazil. **Molecular Ecology**, v.7, p. 889-895, 1998.

MOREIRA, F.M.S., TIEDJE, J. AND MARSH, T.L. *Burkholderia* spp. are among fast growing symbiotic diazotrophs isolated from diverse land use systems in Amazônia and from Brazilian Leguminosae Forest species. In: MEMORIAS DA XXI REUNIÓN LATINOAMERICANA DE RHIZOBIOLOGIA, 2002, Cocoyoc, México, p.45-46.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, M.F.; FARIA, S.M. Occurrence of nodulation in legume species in the Amazon Region of

694 Literatura Citada

Brazil. **New Phytologist**, Cambridge, v.121, n.4, p.563-570, Aug. 1992.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L.(Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallington: CABI, 320p., 2006.

MOREIRA, F.M.S.; GILLIS, M.; POT, B.; KERSTERS, K.; FRANCO, A.A. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical Leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic Applied Microbiology**, Jena, v.16, p.135-146, 1993.

MOREIRA, F.M.S., CRUZ, L.M., FARIA, S.M., MARSH, T., MARTINEZ-ROMERO, E., PEDROSA, F.O., PITARD, R. ; YOUNG, P.J.W. *Azorhizobium doebereineriae* sp. nov. microsymbiont of *Sesbania virgata* (Caz.) Pers. **Systematic and Applied Microbiology**, v.29, p.197-206, 2006.

MOREIRA, F.M.S.; HUANG, S.; BARROS, E.; CARES, J.; COSTA, R. FEIGL, B.; PEREIRA, E.; SWIFT, M. Indicators of change in bellow-ground ecosystems in Brazil. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF AGRONOMY, 1999, Salt Lake City, Utah. **Abstracts...** Sat Lake City, Utah: ASA/CSSA/SSSA, p. 49

MORTON, J.B.; BENNY, G.L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, with an emendations of Glomaceae. **Mycotaxon**, Ithaca, v.37, p.471-491, Apr./June 1990.

MORTON, J.B.; REDCKER, D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. **Mycologia**, v.93, p.181-195, 2001.

MOSIER, A.R. Soil processes and global change. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 27, p.221-229, 1998.

MOSTASSO, F.L. **Crescimento e nodulação de leguminosas em solo contaminado com metais pesados**. 1997. 49p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MOTTA, P.E.F. da. **Fósforo em latossolos com diferentes mineralogias, cultivados e não cultivados: Fracionamento, sorção e disponibilidade para soja e braquiária com e sem micorriza**. 1999, Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MOULIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B.; BOLVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of the beta sub-class of Proteobacteria. **Nature**, London, v.411, n.21, p.948-950, 2001

MULDER, E.G.; BROTONEGORO, S. Free- living heterotrophic nitrogen fixing bacteria. In: QUISPÉL, A. (Ed.). **The biology of nitrogen fixation**. Amsterdam: N. Holl. Publ. Company, 1974. v.3, p.37-84.

MULLIS, K.; FALLONA, F.; SCHARF, S.; SAIKI, R.; HORN, G.; ERLICH, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro-The Polymerase chain reaction. **Cold Spring Harbor Symposia on quantitative biology**, v.51, p.263-273, 1986.

MUNNS, D.N.; FRANCO, A.A. Soil constraints to legume production. In: GRAHAM, P.H.; HARRIS, S.C. (Ed.) **Biological nitrogen fixation technical for tropical agriculture**. Cali: CIAT, 1981. p.133-152.

MURRAY, A.E.; LIES, D.; LI, G.; NEALSON, K.; ZHOU, J.; TIEDJE, J.M. DNA/DNA hybridization to microarrays reveals gene specific differences between closely related microbial genomes. **Proceedings National Academy of Sciences**, v.98, p. 9853-9858, 2001.

NAHAS, E. Solubilização microbiana de fosfatos e de outros elementos. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade**

biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p.467-486

NAHAS, E.; CENTURION, J.F.; ASSIS, L.C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.18, n.1, p.43-48, jan./abr. 1994.

NAIR, M.G.; SAFIR, G.R.; SIQUEIRA, J.O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, Washinton, v.57, n.2, p.434-439, 1991.

NEAL, J.L.; LARSON, R.I. Acetylene reduction by bacteria isolated from the rhizosphere of wheat. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.8, n.2, p.151-155, 1976.

NEIL, C.; CERRI, C.C.; MELILLO, J.M.; FEIGL, B.J.; STEUDLER, P.A.; MORAES, J.F.L.; PICCOLO, M.C. Stocks and dynamics of soil carbon following deforestation for pasture in Rondônia. In: LAL, R.; KIMBLE, J.M.; FOLLETT, R.F.; STEWART, B.A. (Ed.). **Soil processes and the carbon cycle**. Boston: CRC Press, 1998. p.9-28.

NELSEN, C.E. The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems. In: SAFIR, G.R. (Ed.). **Ecophysiology of VA mycorrhizal plants**. Boca Raton: CRC press, 1987. p.71-91

NEWCOMB W. Fine Structure of the roots nodules of *Dryas drummondii* Richards (Rosaceae). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.59, p.2500-2514, 1981.

NEWMAN, E.I.; WATSON, A. Microbial abundance in the rhizosphere: a computer model. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.48, n.1, p.17-56, Sept. 1977.

NEYRA, C.A.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation in grasses. **Advances in Agronomy**, New York, v.29, p.1-38, 1977.

NICK, G.; LAJUDIE, P. de; EARDLY, B.D.; SUOMALAINEN, S.; PAULIN, L.; ZHANG, X.; GILLIS, M.; LINDSTROM, K. *Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostiense* sp. nov., isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.49, p. 1359-1368, 1999.

NIERZWICKI-BAUER, S.A. *Azolla-Anabaena* symbiosis: use in agriculture. In: CRC **Handbook of symbiotic cyanobacteria**. Boca Raton: CRC Press, 1990. Chap.5.

NÓBREGA, R. S. A.; MOTTA, J. S.; LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. de S. Tolerância de Bactérias Diazotróficas Simbióticas à Salinidade *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 899-905, jul./ago., 2004.

NORRIS, D.O. Acid production by *Rhizobium* a unifying concept. **Plant and Soil**, The Hague, v.22, n.2, p.143-166, 1965.

NOUR, S.M.; CLEYET-MAREL, J.C.; BECK, D.; EFFOSSE, A.; FERNANDES, M.P. Genotypic and phenotypic diversity of *Rhizobium* isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.40, n.5, p.345-354, May 1994.

NOUR, S.M.; CLEYET-MAREL, J.C.; NORMAND, P.; FERNANDES, M.P. Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpea (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.45, p.640-648, 1995.

NUERNBERG, N.J.; VIDOR, C.; STAMMEL, J.G. Efeito de sucessões de culturas e tipos de adubação na densidade populacional e atividade microbiana do solo. **Revista brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.8, n.2, p.197-203, maio/ago. 1984.

ODUM, E.P. **Fundamentals of ecology**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1959.

696 Literatura Citada

- ODUM, E.P. **Fundamentals of ecology**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1971.
- ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1983. 431p.
- O'KEEFE, D.M.; SYLVIA, D.M. Mechanisms of the vesicular-arbuscular mycorrhizal plant-growth response. In: ARORA, D.K.; RAI, B.; MUKERJI, D.G.; KNUDSEN, G.R. (Ed.). **Handbook of applied mycology**. New York: M. Dekker, 1991. p.35-53.
- OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.26, n.1, p.1591-1601, Dec. 1994.
- OKON, Y.; ALBRECHT, S.L.; BURRIS, R.H. Factors affecting growth and nitrogen fixation of *Spirillum lipoferum*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.125, p.1248-1254, 1976.
- OKON, Y.; FALLIK, E.; SARIG, S.; YAHALOM, E.; TAL, S. Plant growth promoting effects of *Azospirillum*. In: BOTHE, H.; BRUJIN, F.J. de; NEWTON, J.W. (Ed.). **Nitrogen fixation: hundred years after**. Stuttgart: Gustav Fisher, 1988.
- OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, J.I. The effect of inoculating N₂-fixing bacteria on micropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.242, p.205-215, 2002.
- OLIVEIRA, V.L.; GIACHINI, A.J. Ecologia e aplicação de ectomicorrizas. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p.775-818.
- OLSON, B.M.; MCKERCHER, R.B.; GERMIDA, J.J. Microbial populations in trifluralin-treated soil. In: TINSLEY, J.; DARBYSHIRE, J.F. (Ed.). **Biological processes and soil fertility**. The Hague: Martinus Nijhoff and Junk publishers, 1984. p.379-400. (Developments in plant and soil sciences, v. 11).
- OSONUBI, O.; MULONGOY, K.; AWOTOYE, O.O.; ATAYESE, M.O.; OKALI, D.U.U. Effects of ectomycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on drought tolerance of four leguminous woody seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.136, n.1, p.131-143, Sept. 1991.
- OVERMANN, J.; GARCIA-PICHEL, F. The Phototrophic way of life. Release 3.2 (25/7/2000) In: DWORKIN, M. **THE PROKARYOTES**, Acesso on line: <http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm>, 1999-2005.
- PAPAVIZAS, G.C.; DAVEY, C.B. Extent and nature of the rhizosphere of *Lupinus*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.14, p.215-236, 1961.
- PARSONS, R.; SYLVESTER, W.B.; HARRIS, S.; GRUIJTERS, W.T.M.; BULLIVANT, S. *Frankia* vesicles provide inducible and absolute oxygen protection for nitrogenase. **Plant Physiology**, Rockville, v.83, n.4, p.728-731, Apr. 1987.
- PASZKOWSKI, U.; KROKEN, S.; ROUX, C.; BRIGGS, S.P. Rice phosphate transporters include an evolutionary divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v.99, n.20, p.13324-13329, 2002.
- PATHIRANA SM, TJEPEKEMA JD. Purification of hemoglobin from the actinorhizal root nodules of *Myrica gale* L. **Plant Physiology**, v. 107, p. 827-831, 1995.
- PATRIQUIN, D. O.; DOBEREINER, J. Ligth microscopy of tetrazolium reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.24, p. 734-742, 1978.
- PAUL, E.A. Dynamics of organic matter in soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.76, p.275-285, 1984.

- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. 1.ed. New York: Academic Press, 1989. 273 p.
- PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. California: Academic Press, 1996. 340p.
- PAUL, E.A.; VORONEY, R.P. Field interpretation of microbial biomass and activity measurements. In: KLUG, M.J.; REDDY, C.A. (Ed.) **Current perspectives in microbial ecology**, Washington: American Society of Microbiology, 1984. p. 509-514.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O. Stimulation of hyphal growth of the VA mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* by suspension-cultured *Pueraria phaseoloides* cells and cell products. **New Phytologist**, v.115, p.69-75, 1990.
- PAULA, M.A.; REIS, V.M.; DÖBEREINER, J. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Sacharum* spp.) and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). **Biology and Fertility of Soils** , n.11, p. 111-115, 1991.
- PAULA, M. A.; URQUIAGA, S.; SIQUEIRA, J. O.; DOBEREINER, J. Synergistic effects on VAM fungi and diazotrophic bacteria on nutrition and growth of sweet potato (*Ipomoea batatas*). **Biology and Fertility of Soils**, v.14, p.61-66, 1992.
- PAULA, A.M. de; SOARES, C.R.F.S.; SIQUEIRA, J.O. Biomassa microbiana, atividade bioquímica e fungos micorrízicos arbusculares em solo de área de "landfarming" para tratamento de resíduos petroquímicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2006 (aceito para publicação).
- PAWLOWSKI, K.; BISSELING, T. Rhizobial and Actinorhizal Symbioses: What are the shared features? **The Plant Cell**, v. 8, p. 1899-1913, October 1996.
- PEDROSA, F.O.; STEPHAN, M.P.; DÖBEREINER, J. Interaction of nitrogenase and uptake hydrogenase activities in *Azospirillum brasiliense*. In: VOSE, P.B.; RUSCHEL, A.P. (Ed.). **Associative N₂-fixation**. Boca Raton: CRC Press, 1981. v.1, p.15-25.
- PEIX, A.; MATEOS, P.F.; RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; MARTINEZ-MOLINA, E.; VELAZQUEZ, E. Growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.1927-1935, 2001.
- PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. Rio de Janeiro: Makron Books do Brasil, 1997.
- PEOPLES, M.B.; FAIZAH, A.W.; RERKASEM, B.; HERRIDGE, D.F. **Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field**. Canberra, Austrália: ACIAR, 1989. 76p. (Monograph, 11).
- PEOPLES, M.B.; HERRIDGE, D.F.; LADHA, J.K. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? **Plant and Soil**, Dordrecht, v.174, n.1, p.3-28, July 1995.
- PEREIRA, E. G. **Diversidade de rizóbio isolado de diferentes sistemas de uso da terra na região Amazônica**. Tese (Doutorado), 2000. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- PEREIRA, E.G.; TRANNIN, I.C.B.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Ocorrência de leguminosas e de nodulação em relação a biodiversidade vegetal em ecossistemas florestais brasileiros. In: FertBIO'98, Caxambu. **Resumos...** Caxambu, 1998. p. 218.
- PEREIRA, J.C. **Ecologia da comunidade bacteriana em solos de cerrados**. Tese (Doutorado), 1995, 172 p. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- PEREIRA, J.C.; NEVES, M.C.P.; DROZDOWICZ, A. Influência da antibiose exercida por actinomicetos às estirpes de

698 Literatura Citada

Bradyrhizobium spp., na nodulação da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.1, p.99-108, jan. 1999.

PEREIRA, O.L.; KASUYA, M.C.M.; ROLLEMBERG, C.L.; CHAER, G.M. Isolamento e identificação de fungos micorrízicos rizoctonióides associados a três espécies de orquídeas epífitas neotropicais no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p.191-197, 2005a.

PEREIRA, O.L.; KASUYA, M.C.M.; ROLLEMBERG, C.L.; BORGES, A.C. Indução in vitro da germinação de sementes de *Oncidium flexuosum* (Orchidaceae) por fungos micorrízicos rizoctonióides. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p.199-206, 2005b.

PERES, J. R. R.; VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja. **Agronomia Sulriograndense**, v. 16, nº 2, p. 205-219, 1980.

PERES, J.R.R.; VIDOR, C. Relação entre concentração de células no inoculante e competição por sítios de infecção nodular entre estirpes de *Rhizobium japonicum* em soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.4, n.3, p.139-143, set./dez. 1980.

PERES, J. R. R.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Variabilidade na eficiência em fixar nitrogênio entre isolados de uma mesma estirpe de *Rhizobium japonicum*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 8, p. 193-196, 1984.

PERES, J. R. R.; SUHET, A. R.; VARGAS, M. A. T. Fixação de nitrogênio atmosférico pela ervilha em solo de Cerrados. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 158, p. 16-19, 1989.

PERES, J. R. R.; MENDES, I.C. SUHET, I.C.; VARGAS, M. A. T. Eficiência e competitividade de estirpes de rizóbio para soja em solo de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 17, p. 357-363, 1993

PERSSON, T.; BAATH, E.; CLARHOLM, M.; LUNDKVIST, H.L. SODERSTROM, B.E.; SOHLENIUS, B. Trophic structure, biomass dynamics and carbon metabolism of soil organisms in a scots pine forest. In: T. PERSSON (Ed.). **Structure and function of northern coniferous forest**. 1980, Ecological Bulletins, v.32, p.419-459.

PFENNING, L. Soil and rizosphere microfungi from brazilian tropical forest ecosystems. In: K. HYDE, K. (Ed.). **Biodiversity of tropical microfungi**. Hong Kong: Hong Kong University Press, 1997. p.341-364.

PFENNING, L.; EDUARDO, B.P.; CERRI, C.C. Os métodos da fumigação-incubação e fumigação-extração na estimativa da biomassa microbiana de solos da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.16, n.1, p.31-37, jan./abr. 1992.

PIFFER, R.; RIGITANO, R.L.O. Lixiviação e degradação do inseticida aldicarbe em dois diferentes solos. **Ciência e Prática**, Lavras, v.15, n. 4, p.355-363, out./dez. 1991.

PIROZYNSKI, K.A. Interactions between fungi and plants through the ages. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.59, n.10, p.1824-1827, Oct. 1981.

PLASINSKI, J.; ZHENG, Q.; TAYLOR, R. DNA probes show genetic variation in cyanobacterial symbionts of the *Azolla* fern and a closer relationship variation to free living *Nostoc* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.56, p.1263-1270, 1990.

PLATINICK, N.I. **The world spider catalogue**. American Museum of Natural History, 2000. Disponível "on line" <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/COUNTS.html> (accessado em 5 de abril de 2005)

PLENCHETTE, C.; FORTIN, J.A.; FURLAN, V. Growth responses of several plants species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility I. Mycorrhizal dependency under field conditions. **Plant and Soil**, The Hague, v.70, n.2, p.199-209, 1983.

- POLHILL, R.M. Papilionoideae. In: POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (Ed.) **Advances in legume systematics: part 1**. England: Royal Botanic Gardens Kew, 1981.
- POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H.; STIRTON, C.H. Evolution and systematics of the Leguminosae. In: POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (Ed.) **Advances in legume systematics: part 1**. England: Royal Botanic Gardens Kew, 1981.
- POSTGATE, J. **Nitrogen fixation**, Cambridge University Press, Cambridge, 1998.
- POTH, M.; FOCHT, D.D. ^{15}N kinetic analysis of N_2O production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.49, p.1134-1141, 1985.
- PRADHAN, S.P.; CONRAD, J.R.; PATEREK, J.R.; SRIVASTAVA, V.J. Potential of Phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites. **Journal of Soil Contamination**, Boca Raton, v.7, n.4, p.467-480, 1998.
- PRAGER, M.S. de; **Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos**. Cali: Universidad Nacional de Colombia, 1999. 227p.
- PRIN, Y.; KODJA, H.; DUHOUX, E.; DIEM, H.G.; ROEDERER, Y.; DOMMERGUES, Y. Aerial nodulation in *Casuarina* spp: field survey and preliminary experimental data. **Acta Ecologica**, Beijing, v.13, n.4, p. 479-486, 1992.
- PURCHASE, B.S. Nitrogen fixation associated with sugarcane. **Proceedings of the Southern African Sugarcane Technology Association**, p.173-176, 1980.
- QUAN, Z.; BAE, H.; BAEK, J.; CHEN, W.; IM, W. e LEE, S. *Rhizobium daejeonense* sp. nov. isolated from a cyanide treatment bioreactor. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 2543-2549, 2005.
- QUENSEN, J.F.; MUELLER, S.A.; JAIN, M.K.; TIEDJE, J.M. Reductive dechlorination of DDE to DDMU in marine sediment microcosms. **Science**, Washington, v. 282, n.5389, p.722-724, Oct. 1998.
- RAI, B.; SRIVASTAVA, K. Studies on microbial population of a tropical dry deciduous forest soil in relation to soil respiration. *Pedobiologia*, Jena, v.22, n.2, p.185-190, 1981.
- RAMOS, M. L. G.; MAGALHÃES, N. F. M.; BODDEY, R. M. Native and Inoculated Rhizobia Isolated from Field Grown *Phaseolus Vulgaris*. Effects of liming an acid soil on antibiotic resistance. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, n. 2, p. 79-185, 1987.
- RANGEL-CASTRO, J.I.; KILLHAM, K.; OSTLE, N.; NICOL, G.W.; ANDERSON, I.C. Stable isotope analysis of the influence of root exudates utilization by soil microorganisms. **Environmental Microbiology**, v. 7, n.6, p. 828-338, 2005.
- RAO, P.S.C.; MANSELL, R.S.; BALDWIN, L.B.; LAURENT, M.F. Pesticides and their behavior in soil and water. **Soil Science Fact Sheet**, 1983.
- RAPPÉ, M. S.; GIOVANNONI, S.J. The uncultured microbial majority. **Annual Review of Microbiology**, v. 57, p. 369-394, 2003.
- RECOURT, K.; SCHRIPSEMA, J.; KIJNE, J.W.; VAN BRUSSEL, A.A.N.; LUGTENBERG, B.J.J. Inoculation of *Vicia sativa* subsp. nigra roots with *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae results in the release of *nod* gene activating flavones and chalcones. **Plant Molecular Biology**, n.16, p.841-852, 1991.
- REDDY, K.R.; FEIJTEL, T.C.; PATRICK, W.H. Effect of soil redox conditions on microbial oxidation of organic matter. In: CHEN, Y.; AVNIMELECH, Y. (Ed.). **The role of organic matter in modern agriculture**. Nijhoff, Dordrecht, 1986. p.117-153.

700 Literatura Citada

REDEKER, K.R.; WANG, N.Y.; LOW, J.C.; McMILLAN, A.; TYLER, S.C.; CICERONE, R.J. Emissions of methyl halides and methane from rice paddies. **Science**, Washington, v.290, p.966-969, 2000.

REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I.; POT, B.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.; THIELEMANS, S.; DE LEY, J. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth). **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.37, p. 43-51, 1987.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T.; GILLIS, M.; HOSTE, B.; VANCANNEYT, M.; KERSTERS, K.; AND DE LEY, J. *Azoarcus* gen. nov., nitrogen-fixing proteobacteria associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth), and description of two species, *Azoarcus indigenus* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v. 43, p. 574-584, 1993.

REIS, V.M.; DOBEREINER, J.; 1991 Estudos ecológicos sobre a bactéria fixadora de N₂ *Acetobacter diazotrophicus* p 211-270. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, **Programa e resumos ...SBCS/UFRS**, Porto Alegre.

REIS, V. M.; SANTOS, P. E. de los; TENORIO-SALGADO, S.; VOGEL, J.; STOFFELS, M.; GUYON, S.; MAVINGUI, P.; BALDANI, V. L. D.; SCHMID, M.; BALDANI, J. I.; BALANDREAU, J.; HARTMANN, A.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.54, p. 2155-2162, 2004.

RENNIE, D.A.; TRUOG, E. ALLEN, O.N. Soil aggregation as influenced by microbial gums, level of fertility and kind of crop. **Soil Science Society America Proceedings**, Madison, v. 18, p.399-403, 1954.

REPETTO, O.; BESTEL-CORRE, G.; DUMAS-GAUDOT, E.; BERTA, G.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Targeted proteomics to identify cadmium-induced protein modifications in *Glomus mosseae*-inoculated pea roots. **New Phytologist**, Cambridge, v.157, p.555-567, 2003.

RIBBE, M.; GADKARI, D.; MEYER O. N₂ Fixation by *Streptomyces thermoautotrophicus* Involves a Molybdenum - Dinitrogenase and a Manganese-Superoxide Oxidoreductase That Couple N₂ Reduction to the Oxidation of Superoxide Produced from O₂ by a Molybdenum - CO Dehydrogenase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 42, p 26627-26633, 1997.

RIBEIRO, A.; AKERMANS, A D. L.; VAN KAMMEN, A.; BISSELING, T.; PAWLOWSKI, K. A nodule-specific gene encoding a subtilisin-like protease is expressed in early stages of actinorhizal nodule development. **Plant Cell**, v.7, p.785-794, 1995.

RIBEIRO-JÚNIOR, W. Q.; FRANCO, A. A.; LOPES, E. S.; Eficiência de Estirpes de *Bradyrhizobium* spp. para *Enterolobium contortisiliquum*, em latossolo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, p. 219-225, 1986.

RIBEIRO-JÚNIOR, W. Q.; LOPES, E. S.; FRANCO, A. A. Eficiência de Estirpes de *Bradyrhizobium* spp. para quatro Leguminosas arbóreas e competitividade das estirpes em *Albizia lebbek* em latossolo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 11, p. 275-282, 1987.

RICHARDS, B.N. **Introduction to the soil ecosystem**. London: Longman, 1974.

RICHARDSON, A.E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v.28, p.897-906, 2001.

RICHTER, M.; WILMS, W.; SCHEFFER, F. Determination of root exudates in a sterile continuous flow culture. II. Short-term and long-term variations of exudation intensity. **Plant Physiology**, Rockville, v.43, n.11, p.1747-1754, Nov. 1968.

- RIGITANO, R.L.O.; ALVES, A.D.; SOUZA, J.C. DE; FRANCO, A.A. Degradação do inseticida-nematicida aldicarb em solos sob vegetação nativa e sob cultura do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.6, p.1295-1300, 2001.
- RILLIG, M.C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. **Canadian Journal of Soil Science**, v.28, n.4, p.355-363, 2004
- RITCHIE, G.A.F. NICHOLAS, D.J.D. Identification of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. **Biochemical Journal**, v.126, p.1181-1191, 1972.
- RIVAS, R.; VELAZQUEZ, E.; WILLEMS, A.; VIZCAINO, N.; SUBBA-RAO, S.; MATEOS, P.F.; GILLIS, M.; DAZZO, F.B.; MARTINEZ-MOLINA, E. A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume *Neptunia natans*(L.f.) Druce. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p. 5217-5222, 2002.
- RIVAS, R.; WILLEMS, A.; SUBBA-RAO, N.S.; MATEOS, P.F.; DAZZO, F.B.; KROPPENSTEDT, R.M.; MARTINEZ-MOLINA, E.; GILLIS, M.; VIZCAINO, N. Description of *Devosia neptuniae* sp. nov. that nodulates and fixes nitrogen in symbiosis with *Neptunia natans*, an aquatic legume from India. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 26, p.47-53, 2003.
- ROBERT, M.; BERTHELIN, J. Role of biological and biochemical factors in soil mineral weathering. In: HUANG, P.M.; SCHNITZER, M. (Ed.). **Interactions of soil minerals with natural organics and microbes**. Madison: Soil Science Society of America, n.17, 1986. p.453-495.
- ROBERT, M.; CHENU, C. Interactions between soil minerals and microorganisms. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1992. v.7, p.307-404.
- ROBERTSON, G.P.; PAUL, E.A.; HARWOOD, R.R. Greenhouse gases in intensive agriculture: Contributions of individual gases to the radiative forcing of the atmosphere. **Science**, Washington, v.289, n.5486, p.1922-1925, 2000.
- ROBERTSON, L.A.; KUENEN, J.G. The colorless sulfur bacteria. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. (Ed.). **The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria, ecophysiology, isolation, identification, applications**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. v.1, p.385-413.
- RODRIGUES, F.A.; CORREA, G.F.; SANTOS, M.A.; BORGES-FILHO, E.L. Fatores envolvidos na supressividade de *Rhizoctonia solani* em alguns solos tropicais brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.2, p.239-246, abr./jun. 1998.
- ROJAS, E.P. **Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com mudas de espécies arbóreas tropicais**. 2002. 90p. (Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ROME, S.; FERNANDEZ, M.P.; BRUNEL, B.; NORMAND, P.; CLEYET-MAREL, J.C. *Sinorhizobium medicae* sp. nov., isolated from annual *Medicago* spp. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.46, p.972-980, 1996.
- ROSS, D.J. Estimation of soil microbial C by a fumigation-extraction method: influence of seasons, soils and calibration with the fumigation-incubation procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.3, p.295-300, 1990.
- ROSWALL, T. Nitrogen losses from terrestrial ecosystems: global, regional and local considerations. In: INTERNATIONAL MEET. GLOBAL IMPACTS OF APPLIED MICROBIOLOGY BANKOK, 5., 1979. **Proceedings....** 1979. p.17-26.
- ROUATT, J.W. In: GRAY, T.R.G.; PARKINSON, D. (Ed.). **The ecology of soil bacteria**. Liverpool: Liverpool University Press, 1967. p.360-370.
- ROUATT, J.W.; PETERSON, E.A.; KATZNELSON, H. Microorganisms in the root zone in relation to temperature. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.9, p.227-236, 1963.

702 Literatura Citada

ROUGHLEY, R.J. Commercial applications of biological dinitrogen fixation. In: SHAMSUDDIN, Z.H.; OTHMAN, W.M.W.; MARZIAH, M.; SUNDRAM, J. (Ed.). **Biotechnology of Nitrogen fixation in the tropics**. Serdang, Malaysia: University Pertanian Malaysia, 1988. p.147-154.

ROVIRA, A.D.; DAVEY, C.B. Biology of the rhizosphere. In: CARSON, E.W. (Ed.). **The plant root and its environment**. Charlottesville: University Press of Virginia, 1971. p.153-204.

ROVIRA, A., D.; FOSTER, R.C.; MARTIN, J.K. Note on the terminology origin, nature and nomenclature of the organic materials in the rhizosphere. In: HARLEY, J.L.; SCOTT, R. (Ed.) **The Soil-Root Interface**, Academic Press, London, 1979, p.1-4.

ROWELL, R.N. 1981. APUD: RICHARDS, B.N. **The Microbiology of terrestrial ecosystems**. New York: Longman Scientific & Technical, 1981.

RUGGIERO, P.; DEC, J.; BOLLAG, J.-M. Soil as a catalytic system. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.-M. (Eds). **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, v.9, 1996. p.79-122.

RUMJANEK, N.G.; DOBERT, R.C.; VAN BERKUM, P.; TRIPLETT, E.W. Common soybean inoculant strains in Brazil are members of *Bradyrhizobium elkanii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n.12, p.4371-4373, 1993.

RUSCHEL, A.P. **Fixação biológica de nitrogênio em cana de açúcar**. 1975. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

RYGIEWICZ, P.T.; ANDERSON, C.P. Mycorrhizae alter quality and quantity of carbon allocated below ground. **Nature**, London, v.369, n.6475, p.58-60, May 1994.

SÁ, J.C.M. Manejo da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p. 267-319.

SAANO, A.; LINDSTRÖM, K. Isolation and identification of soil DNA. In: ALEF, K.; NANPIERI, P. (Ed.). **Methods in applied microbiology and biochemistry**, London: Academic Press, 1995. p.440-451.

SANO, S.M.; SOUZA, D.M.G. DE; WARNES, A. Efeito de diferentes culturas sobre micorrizas vesículo-arbusculares, indígenas e produção de sorgo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 22., 1989, Recife. **Programas e resumos...**Recife: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1989, p.143-144.

SADASIVAN, T.S. Effects of mineral nutrients on soil microorganisms and plant disease. In: BAKER, K.F.; SNYDER, (Ed.). **Ecology of soil borne plant pathogens: Prelude to biological control**. Berkeley: University of California Press, 571 p., 1965.

SADOWSKY, M.J.; GRAHAM, P.H. Root and stem nodule bacteria. In: DWORKIN, M. (Ed.) **The Prokaryotes**, Springer Verlag, New York, 2a edição, 2000. On line <http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm>.

SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares em cafeeiro. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. p. 203-254.

SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O.; GUIMARÃES, P.T.G.; OLIVEIRA, E. Colonização do cafeeiro por diferentes fungos micorrízicos: efeitos na formação das mudas e no crescimento em solo fumigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas,v.19, n.2, p.213-220, maio/ago. 1995.

SAMTSEVICH, S. A. Root excretions of plants: An important source of humus formation in the soil. *Humus et Planta*, v.5, p.147-154. **Transactions International Symposium**, Praga, 13-17 set., 1971.

SANGINGA, N. Nitrogen fixation by trees and its contribution to the nitrogen status of soils or associated crops. In: FONDATION INTERNATIONALE POUR LA SCIENCE. **Interactions plantes microorganismes**. Senegal, 1992. p.14-32.

SANGINGA, N.; MULONGOY, K.; AYANABA, A. Effectivity of indigenous rhizobia for nodulation and early nitrogen fixation with *Leucaena leucocephala* grown in nigerian soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.21, n.2, p.231-235, 1989.

SANGINGA, N.; BOWEN, G.D.; DANSO, S.K.A. Genetic variability in symbiotic nitrogen fixation within and between provenances of two casuarina species using the ¹⁵N-labeling methods. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.4, p.539-547, 1990.

SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Genesis, 1999. 491p.

SANTOS, D. R.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. Inoculação do Caupi em Solo Salinizado da Região Semi-árida do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.14, n. 3, p. 291-295, set/dez 1990.

SAXENA, D.; STOTZKY, G. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworm, nematodes, protozoa, bacteria and fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.1225-1230, 2001.

SCHÄFFER, A. Pesticide effects on enzyme activities in the soil ecosystem. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York, 1993. v.8, p.273-340.

SCHUEBLIN, T.R.; RIDGWAY, K.P.; YOUNG, J.P.W.; HEIJDEN, M.G.A. VAN DER. Non legumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.70, n.10, p.6240-6246, 2004.

SCHLESINGER, W.H. Carbon balance in terrestrial detritus. **Annals Review Ecology Systematic**, v.8, p.51-81, 1977.

SCHLESINGER, W.H. Carbon sequestration in soils. **Science**, Washington, v.284, p.2095, 1999.

SCHOLLES, D.; VARGAS, L.K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* em solo inundado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, p.973-979, 2004.

SCIENTIFIC AMERICAN. Not cleaning up. February, 1999, p. 22-33.

SCHOLLA, M.H.; ELKAN, G.H. *Rhizobium fredii* sp. nov., a fast-growing species that effectively nodulates soybeans. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.34, p.484-486, 1984.

SCHUSSLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, v.105, p.1413-1421, 2001.

SCHWAB, S.M.; MENGE, J.A.; TINKER, P.B. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist**, Oxford, v.117, n.3, p.387-398, Mar. 1991.

SCHWINTZER, C.R.; BERRY, A. M.; DISNEY L. D. Seasonal patterns of root nodule growth, endophyte morphology, nitrogenase activity and shoot development in *Myrica gale*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 60, p. 746-757, 1982.

SCOTTI, M. R. M. L.; SÁ, N. M. H.; VARGAS, M. A. T.; DÖBEREINER, J.. Streptomycin Resistance of *Rhizobium* Isolates from Brazilian Cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.54, n. 4, p. 733-738, 1982.

704 Literatura Citada

SEGOVIA, L.; YOUNG, J.P.W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of american *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.43, n.2, p.374-377, 1993.

SELDIN, L.; DUBNAU, D. Deoxyribonucleic acid homology among *Bacillus polymyxa*, *Bacillus macerans*, *Bacillus azotofixans*, and other nitrogen-fixing *Bacillus* strains. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.35, p.151-154, 1985.

SELDIN, L.; VAN ELSAS, J.D.; PENIDO, E. G.C. *Bacillus azotofixans* sp. nov. a nitrogen-fixing species from Brazilian soils and grass roots. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.34, p.451-456, 1984.

SELLSTEDT, A.; WINSHIP, L.J. Hydrogen metabolism of *Casuarina* root nodules: A comparison of two inoculum sources. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.70, n.2, p.367-372, June 1987.

SELLSTEDT, A.; ROSBROOK, P.A.; KANG, L.; REDDELL, P. Effect of carbon on growth, nitrogenase and uptake hydrogenase activities of *Frankia* isolates from *Casuarina* sp. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.58, n.1, p.63-68, Jan. 1994.

SHI, D.J.; HALL, D.O. *Azolla* and immobilized cyanobacteria (blue-green algae): from traditional agriculture to biotechnology. **Plants Today**, v.1. p.5-12, 1988.

SIEVERDING, E. **Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems**. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1991. 371p.

SILVA, G.G.; FRANCO, A.A. Selection of *Rhizobium* spp. strains in culture medium for acid soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p.169-173, 1984.

SILVA, G.N.; VIDOR, C. As práticas de manejo de solo na população microbiana. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.8, n.3, p.291-296, set./out. 1984.

SILVA JÚNIOR, J.P.; SIQUEIRA, J.O. Aplicação de formononetina sintética ao solo estimula a formação de micorriza arbuscular no milho e na soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.9, p.35-41, 1997.

SILVA, M.F.; CARREIRA, L. M.M.; TAVARES, A S.; RIBEIRO, I. C.; JARDIM, M A G.; LOBO, M. G. A; OLIVEIRA, J. Leguminosas da Amazônia brasileira: Lista prévia. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 39., 1988, Belém. **Anais...** Belém: SBB, 1989. p.193-237.

SILVEIRA, A.M.; VICTORIA, R.L.; BALLESTER, M.V.; CAMARGO, P.B.de; MARTINELLI, L.A.; PICCOLO, M.C. Simulação dos efeitos das mudanças do uso da terra na dinâmica de carbono no solo na bacia do rio Piracicaba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.2, p.389-399, 2000.

SILVEIRA, J.F.; GUEDES, G.A.; SIQUEIRA, J.O. Comportamento de nove variedades de cana de açúcar (cana-planta) em diferentes níveis de nitrogênio. **Ciência e Prática**, Lavras, v.4, n.1, p.38-41, jan./jun. 1980.

SILVESTER W.B.; HARRIS, S. L.; TJEPKEMA, J.D. Oxygen regulation and hemoglobin. In: SCHWINTZER, C.R.; TJEPKEMA, J.D. (Ed.) **The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants**, San Diego: Academic Press, 1990, p. 157-176.

SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B.; NAKAO, P. Legume response to rhizobial inoculation in the tropics: Myths and realities. In: LAL, R.; SANCHEZ, P.A. (Ed.). **Myths and science of soils of the tropics**. Madison: SSSA Special publication number 29, 1992. p.135-155.

SIQUEIRA, J.O. **Nutritional and edaphic factors affecting spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi**. 1983. 123p. Tese (Doutorado) University of Florida, Florida.

SIQUEIRA, J.O. Cultura axênica e moxênica de fungos micorrízicos arbusculares. In: II REBRAM. **Anais...**, São Paulo, SMA/USP, 1987, p.44-70.

SIQUEIRA, J.O. Microrganismos do solo e seus processos irrelevantes para a produtividade agrícola? In: MUNIZ, A.C.; FURLANI, A.M.C.; FURLANI, P.R.; FREITAS, S.S. (Ed.). **A responsabilidade social da ciência do solo. Campinas: Sociedade Brasileira do Solo.** Campinas, 1988. p.337-352.

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.151-194.

SIQUEIRA, J.O., (Ed.) **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas.** Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. 290 p.

SIQUEIRA, J.O.; CASTRO, H.A. Bio-extraction of metallic elements from alumino-silicate by *Aspergillus*. **Revista Latino Americana de Microbiologia**, v. 24, p.265-269, 1982.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas.** Brasília: MEC/ESAL/FAEPE/ABEAS, 1988. 236 p.

SIQUEIRA, J.O.; KLAUBERG-FILHO, O. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. (Ed.). **Tópicos em Ciência do Solo.** Viçosa: SBCS, 2000. v.1, p.235-264.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Microbial populations and activities in highly-weathered acidic soils: highlights of the Brazilian research. In: MONIZ, A.C.; FURLANI, A.M.C.; SCHAFFERT, R.E.; FAGERIA, N.K.; ROSOLEM, C.A.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Plant-soil interactions at low pH.** Campinas: Brazilian Soil Science Society, 1997. 139-156.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN Jr., O.J. The importance of mycorrhizae association in natural low fertility soils. In: MACHADO, A.T.; MAGNAVACA, R.; PANDEY, S.; SILVA, A.F. (Ed.). **International Symposium on Environmental Stress: maize in perspective.** Brasília: Embrapa, 1995. p.240-280.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN Jr., O.J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native wood species. **Mycorrhiza**, New York, v.11, p.245-255, 2001.

SIQUEIRA, J.O.; TRANNIN, I.C.B. Cultivos transgênicos: possíveis riscos e alterações no agrossistema. In: I ENCONTRO SUL MINEIRO SOBRE SISTEMAS DE PLANTIO DIRETO. Lavras, cd-rom, 2003.

SIQUEIRA, J.O.; TRANNIN, I.C.B. Agrossistemas transgênicos. In: BORÉM, A. **Biotecnologia e Meio Ambiente**, Viçosa, 2004. p.197-270.

SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H.; SCHENCK, N.C. Spore germination and germ tube growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in vitro. **Mycologia**, v.74, p.952-959, 1982.

SIQUEIRA, J.O.; MAHMUD, A.W.; HUBBELL, D.H. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares em relação à acidez do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.10, p.1-16, 1986.

SIQUEIRA, J.O.; POUYÚ, E.; MOREIRA, F.M.S. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, n.3, p.569-580, jul./set. 1999.

SIQUEIRA, J.O.; SAFIR, G.R.; NAIR, M.G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal formation and plant growth by flavonoids compounds. **New Phytologist**, Cambridge, v.118, p.87-93, 1991a.

706 Literatura Citada

SIQUEIRA, J.O.; SAFIR, G.R.; NAIR, M.G. VA-mycorrhizae and mycorrhiza stimulating isoflavonoid compounds reduce plant herbicide injury. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.134, n.2, p.233-242, July 1991c.

SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; SCHENCK, N.C. Ocorrência de micorrizas vesículo-arbusculares em agro e ecossistemas naturais do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24. p. 1499-1506, 1989.

SIQUEIRA, J.O.; NAIR, M.G.; HAMMERSCHMIDT, R.; SAFIR, G.R. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.10, n.1, p.63-121, Jan. 1991b.

SIQUEIRA, J.O.; ROCHA Jr., W.F.; OLIVEIRA, E.; COLOZZI-FILHO, A. The relationship between vesicular-arbuscular mycorrhiza and lime: associated effects on the growth and nutrition of *Brachiaria* grass (*Brachiaria decumbens*). **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v.10, p.65-71, 1990.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN Jr., O.J.; FLORES-AYLAS, W.W.; GUIMARÃES, P.T.G. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, New York, v.7., p.293-300, 1998.

SIQUEIRA, J.O.; SYLVIA, D.M.; GIBSON, J.; HUBBELL, D.H. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.31, p.965-972, 1985.

SIQUEIRA, J.O.; TRANNIN, I.C.B.; RAMALHO, M.A.P.; FONTES, E.M.G. Interferências no agrossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v.21, n.1, p.11-81, 2004.

SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C.; CURI, N.; ROSADO, S.; DAVIDE, A.C. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. **Forest Ecology and management**, College Station, v.107, p.241-252, 1998.

SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Microrganismos e processos biológicos do solo: perspectiva ambiental**. Brasília: EMBRAPA, 1994. 142p.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; GUIMARÃES, P.T.G.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. Crescimento de mudas e produção do cafeeiro sob influência de fungos micorrízicos e superfosfato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.19, p.53-60, 1993.

SKIPPER, H.D. Bioremediation of contaminated soils. In: SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. (Ed.). **Principles and applications of soil microbiology**, 1998. p.469-481.

SKLADANY, G.J.; METTING-JR., F.B. Bioremediation of contaminated soil. In: METTING Jr., F.B. (Ed.). **Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker, 1992. p.483-514.

SMELT, J.H.; CRUM, S.J.H.; TEUNISSEN, W.; LEISTRA, M. Accelerated transformation of aldicarb, oxamyl and ethoprophos after repeated soil treatments. **Crop Protection**, v.6, p. 295-303, 1987.

SMIT, G.; PUVANESARAJAH, V.; CARLSON, R.W.; BARBOUR, M.; STACEY, G. *Bradyrhizobium japonicum nodD1* can be specifically induced by soybean flavonoids that do not induce the nodYABC-SUIJ operon. **Journal of Biological Chemistry**, v.267, p.310-318, 1992.

SMITH, E.S.; READ, J.D. **Mycorrhizal symbiosis**. 2.ed. New York: Academic Press, 1997. 605p.

SMITH, J.A.; MÉTRAUX, J. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* induces systemic resistance to *Pyricularia oryzae* in rice. **Physiology Molecular and Plant Pathology**, London, v.39, p.451-461, 1991.

SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.M.; STOTZKY, G. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1990. v.6, p.357-395.

SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.39, p.221-44, 1988.

SMITH, S.E.; BARKER, S.S. Plant phosphate transporter genes help harness the nutritional benefits of arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.7, n.5, 2002.

SMITH, T.; PITTS, K.; MCGARVEY, J.A.; SUMMERS, A.O. Bacterial oxidation of mercury metal vapor, Hg (0). **Applied and Environmental microbiology**, Washington, v.64, n.4, p.1328-1332, Apr. 1998.

SOARES, AL.L.; PEREIRA, J.P.A.R.; FERREIRA, P.A.A.; MOREIRA, F.M.S.; ANDRADE, M.J.B. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* cultivar BR14 Mulato por estirpes selecionadas de rizóbio no Município de Perdões. In: Anais FERTBIO, 2004, Lages, SC. Resumo expandido-CD-room.

SOBERÓN-CHAVEZ, G.; NÁJERA, R.; OLIVERA, H.; SEGOVIA, L. Genetic Rearrangements of a *Rhizobium phaseoli* Symbiotic Plasmid. **Journal of Bacteriology**, p. 487-491, Aug. 1986. .

SOCCOL, V.T.; PAULINO, R.C. Riscos de contaminação do agroecossistema com parasitos pelo usos do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. (Ed.) **Impacto ambiental do uso do lodo de esgoto**. Jaguariuna: Embrapa meio ambiente, 2000. p.245-258.

SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; CHASE, M.W.; MORT, M.E.; ALBACH, D.C.; ZANIS, M.; SAVOLAINEN, V.; HAHN, W.H.; HOOT, S.B.; FAY, M.F.; AXTELL, M.; SWENSEN, S.M.; PRINCE, L.M.; KRESS, W.J.; NIXON, K.C.; FARRIS, J.A. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. **Botanic Journal of the Linnean Society**, v.133, p.381-461, 2000.

SOUZA, F.A. de; SILVA, E.M.R. da. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.). **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996. p.255-290.

SOUZA, L.A.G.; MAGALHÃES, F.M.M.; OLIVEIRA, L.A. Avaliação do crescimento de *Rhizobium* de leguminosas florestais tropicais em diferentes meios de cultura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, p165-168, 1984.

SOUZA, L.A.G.; SILVA, M.F.; MOREIRA, F.W. Capacidade de nodulação de cem leguminosas da região Amazônica. **Acta Amazônica**, Manaus, v.24, n.1/2, p.9-18, mar./jun. 1994.

SOUZA-SILVA, C.M.M.; FAY, E.F. Persistência e biomagnificação de moléculas xenobióticas. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Microbiologia ambiental**. Brasília: EMBRAPA-CNPMA, 1997. p.67-106.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2005, 640 p.

SPARLING, G.P.; FELTHAM, C.W.; REYNOLDS, J.; WEST, A.W.; SINGLETON, P. Estimation of soil microbial C by a fumigation-extraction method: use on soils of high organic matter content, and a reassessment of the k_c -factor. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.22, n.3, p.301-307, 1993.

708 Literatura Citada

SPEROTTO, R.A.; GROSS, J. V., C.; PEREIRA PASSAGLIA, L. M.; SCHRANK, I. S. The electron transfer flavoprotein fixABCX gene products from *Azospirillum brasilense* show a NifA-dependent promoter regulation. **Current Microbiology**, Vol. 49, Issue 4, October 2004, 267-273.

SPRENT, J.I. Which steps are essential for the formation of functional legume nodules? **New Phytologist**, Cambridge, v.111, n.2, p.129-153, Feb. 1989.

SPRENT, J.I. Nodulation as a taxonomic tool. In: HERENDEEN, P.S.; BRUNEAU, A. (Ed). **Advances in Legume Systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, v.9, p.21-44, 2000.

SQUARTINI, A.; STRUFFI, P.; DORING, H.; SELENSKA-POBELL, S.; TOLA, E.; GIACOMINI, A.; VENDRAMIN, E.; VELAZQUEZ, E.; MATEOS, P.F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; DAZZO, F.B.; CASELLA, S.; NUTI, M.P. *Rhizobium sullae* sp. nov. (formerly *Rhizobium hedysari*), the root-nodule microsymbiont of *Hedysarum coronarium* L. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p.1267-1276, 2002.

STACEY, G. Workshop summary: compilation of the *nod*, *fix*, and *nif* genes of Rhizobia and information concerning their function. In: GRESSHOLF, ROTH, L.E.; STACEY, G.; NEWTON, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation: achievements and objectives**. New York: Chapman and Hall, New York, 1990. p.239-244.

STANIER, R.Y.; ADELBERG, E.A.; INGRAHAM, J.L.; WHEELIS, M.L. **Introduction to the microbial world**. 5.ed. New York: Prentice-Hall, 1979.

STARC, A. **Archives Mikrobiology**, v.12. p.329-352, 1942.

STEVENSON, F.J. **Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur and micronutrients**. New York: John W 1986. 380p.

STORK, N.E.; EGGLETON, P. Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. **American Journal of alternative agriculture**, v.7 (1/2), p. 38-47, 1992.

STOTZKY, G. Activity, ecology and population dynamics of microorganisms in soil. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, v.1, p.59-137, 1972.

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N. G. **Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, nov. 1999.51 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos 94)

STRUTHERS, J.K.; JAYACHANDRAN, K.; MOORMAN, T.B. Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.64, n.9, p.3368-3375, Sept. 1998.

STRZELCZYK, E. Studies on the interactions of plants and free living nitrogen-fixing microorganisms. II. Development of antagonists of *Azotobacter* in the rhizosphere of plants at different stages of growth in two soils. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.7, p.507-513, 1961.

STÜRMER, S.L. Evolução, classificação e filogenia dos fungos micorrízicos arbusculares. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V. FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas - Soil fertility, soil biology and plant nutrition interrelationships**. Lavras: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p.797-818.

STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F.M.S.;

SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CABI-Publishing, 2006, p.206-236.

SUBBA-RAO, N.S. Phosphate solubilization by soil microorganisms. In: SUBBA-RAO, N.S. (Ed.). *Advances in microbiology*. London: Butt... **Science**, p.219-241, 1982.

SUMNER, M.E. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. **Advances in Soil Science**, New York, v.12, p. 53-123, 1990.

SUN, J.S.; SIMPSON, R.J.; SANDS, R. Nitrogenase activity of two genotypes of *Acacia mangium*, as affected by phosphorus nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.144, n.1, p.51-58, Jan. 1992.

SWENSEN, S.M.; MULLIN, B. Phylogenetic relationships among actinorhizal plants. The impact of molecular systematics and implications for the evolution of actinorhizal symbioses. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.99, n.4, p.565-573, Apr. 1997.

SWIFT, M.J. Towards the second paradigm: integrated biological management of soil. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade biológica do solo e nutrição de plantas**. Lavras: SBCS/UFLA/DCS, 1999. p.11-24.

SWIFT, M.J.; BIGNELL, D. (Ed.). **Standard methods for the assessment of soil biodiversity and land use practice: alternatives for the slash and burn project**. Bogor: ASB/ICRAF, 2001. 34 p.

SY, A.; GIRAUD, E.; JOURAND, P.; GARCIA, N.; WILLEMS, A.; DE LAJUDIE, P.; PRIN, Y.; NEYRA, M.; GILLIS, M.; BOVIN-MASSON, C.; DREYFUS, B. Methylophilic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.183, n.1, p.214-220, Jan. 2001.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASAKAWA, N.; MAGALHÃES, F.M.M.; OLIVEIRA, L.A.; PEREIRA, R.M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras da Amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, v.12, n.1, p.15-22, mar. 1982.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; OLIVEIRA, L.A.; DE PODESTA-FILHO, J.A.; ST. JOHN, T.V. Nodulation of legumes, nitrogenase activity of roots and occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* spp. in representative soils of central Amazônia. **Agro-Ecosystems**, Amsterdam, v.6, p.249-266, 1980.

SYLVIA, D.M.; WILLIAMS, S.E. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stresses. In: BETHLENFALVAY, G.J.; LINDERMAN, R.G. **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1992. p.101-124.

SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.F.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. **Principles and Applications of Soil Microbiology**. Prentice-Hall, Inc.: New Jersey, 1998. 550p.

TABACCHIONI, S.; VISCA, P.; CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; DI SERIO, C.; FANCELI, S.; FANI, R. Molecular characterization of rhizosphere and clinical isolates of *Burkholderia cepacia*. **Research in Microbiology**, Paris, v.146, p.531-542, 1995.

TABATAI, M.A.; FU, M. Extraction of enzymes from soil. In: G. STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1992. v.7, p.197-227.

TAN, Z.Y.; KAN, G.X.; WANG, E.T.; REINHOLD-HUREK, B.; CHEN, W.X. *Rhizobium yanglingense* sp.nov., isolated from arid and semi-arid regions in China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v.51, p.901-914, 2001.

710 Literatura Citada

TAPIA-HERNÁNDEZ, A. BUSTILLOS-CRISTALES, M. R. JIMENEZ-SALGADO, T. CABALLERO-SALGADO, J. FUENTES-RAMÍREZ, L. E. Natural Endophytic Occurrence of *Acetobacter diazotrophicus* in Pineapple Plants. **Microbial Ecology**, v.39, p. 49-55, 2000.

THOMPSON, J.P. What is the potential for management of mycorrhizas in agriculture. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.159, n.1, p.191-200, Feb. 1994.

TIEDJE, J.M.; SEXTONE, A.J.; PARKIN, T.B.; REVSBECH, N.P.; SHELTON, D.R. Anaerobic processes in soil. **Plant and Soil**, The Hague, v.76, n.1/3, p.197-212, 1984.

TIEN, T.M.; GASKENS, M.H.; HUBBEL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.37, p.1016-1024, 1979.

TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B. et al. Forecasting agriculturally driven Global Environmental change. **Science**, Washington, 292:281-284, 2001.

TISDALL, J.M.; OADES, J.M. The effect of crop rotation on aggregation in a red-brown earth. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v.18, p.423-433, 1980.

TISDALL, J.M.; OADES, J.M. Organic matter and water stable aggregates in soil. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.32, n.1, p.141-163, Mar. 1982.

TISDALL, J.M. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. In: ROBSON, A.D.; ABBOTT, L.K.; MALAJCZUK, N. (Ed.). **Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry**. Dordrecht: Kluwer academic publishers, 1994, p.115-121.

TJEPKEMA, J.D. Physiology of actinorrhizas. In: VEEGER, C.; NEWTON, W.E. (Ed.) **Advances in N- fixation research**. The Hague: Martinus Nijhoff, 1984.

TJEPKEMA J.D.; ASA, D.J. 1987. Total and co-reactive heme content of actinorhizal nodules and the roots of some non-nodulated plants. **Plant and Soil**, 100:225-236.

TOLEDO, I., LLORET, L., AND MARTINEZ-ROMERO, E. *Sinorhizobium americanus* sp. nov., a new *Sinorhizobium* species nodulating native *Acacia* spp. in Mexico. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 26, p. 54-64, 2003. [Erratum: Syst. Appl. Microbiol. (2003) 26:319.[Erratum: Syst. Appl. Microbiol. (2003) 26:319. -- species epithet corrected to 'americanum']

TORREY, J.G. *Casuarina*: actinorhizal nitrogen fixing tree in the tropics. In: GRAHAM, P.H.; HARRIS, S.C. (Ed.). **Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1982. p.427-439.

TORREY, J.G. Endophyte sporulation in root nodules of actinorhizal plants. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.70, n.2, p.279-288, June 1987.

TORREY, J.G.; RACETTE, S. Specificity among Casuarinaceae in root nodulation by *Frankia*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.118, n.2, p.157-164, 1989.

TÖRSVIK, V. Diversity of microbial communities determined by DNA analysis. In: RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K. (Ed.). **Beyond biomass**. [S.l.]: Wiley Exeter, 1994. p.39-48.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microorganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo. In: AVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W. V.; COSTA, L.M.C. (Ed.) **Tópicos em**

Ciência do Solo, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.2, 1992, p. 195-276.

TRANNIN, I.C.B.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Tolerância de estirpes e isolados de *Bradyrhizobium* e de *Azorhizobium* a zinco, cádmio e cobre "in vitro". **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, n.2, p.305-316, abr./jun. 2001a.

TRANNIN, I.C.B.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e nodulação de *Enterolobium contortisiliquum*, *Acacia mangium* e *Sesbania virgata* em solo contaminado com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, n.3, p.753-763, jul./set. 2001b.

TRANNIN, I.C.B.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Avaliação agrônômica de um biossólido industrial para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.3, p.261-269, 2005.

TRAPPE, J.M. Phylogenetic and ecological aspects of mycotrophy in the Angiosperms from an evolutionary standpoint In: SAFIR, G.R. (Ed.). **Ecophysiology of VA Mycorrhizal plants**. Boca Raton, CRC Press, 1987. p. 5-25

TRINICK, M.J. Structure of nitrogen-fixing nodules formed by *Rhizobium* on roots of *Parasponia andersonii* plant. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.25, p.565-578, 1979.

TRUJILLO, M. E.; WILLENS, A.; ABRIL, A.; PLANCHUELO, A.; RIVAS, R.; LUDEÑA, D.; MATEOS, P. F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E. Nodulation of *Lupinus albus* by Strains of *Ochrobactrum lupini* sp. nov. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.3, p. 1318-1327, Março 2005.

TSAI, S.M.; PHILLIPS, D.A. Flavonoids released naturally from alfafa promote development of symbiotic *Glomus* spores in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, p.1485-1488, 1991.

TURK, D.; HAROLD, H.K.; SINGLETON, P.W. Response of tree legumes to rhizobial inoculation in relation to the population density of indigenous rhizobia. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, n.1, p.75-81, Jan. 1993.

URQUIAGA, S.; CRUZ, K.H.S.; BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v.56, p.105-114, 1992.

URQUIAGA, S.; ZAPATA, F. (Ed.) **Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales em la América Latina Y el Caribe**. Porto Alegre: Genesis; Rio de Janeiro: EMBRAPA Agrobiologia, 2000, 110 p.

VAN BERKUM, P.; EARDLY, B.D. The aquatic budding bacteria *Blastobacter denitricans* is a nitrogen fixing symbiont of *Aeschynomene indica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.3, p.1132-1136, 2002.

VAN BERKUM, P.; LEIBOLD, J.M.; EARDLY, B.D. Proposal for combining *Bradyrhizobium* spp. (*Aeschynomene indica*) with *Blastobacter denitricans* and to transfer *Blastobacter denitrificans* (Hirsh and Muller, 1985) to the genus *Bradyrhizobium* as *Bradyrhizobium denitrificans* (comb. Nov.). **Systematic and Applied Microbiology**, v.29, p.207-215, 2006.

VAN BERKUM, P.; BEYENE, D.; BAO, G.; CAMPBELL, T.A.; EARDLY, B. *Rhizobium mongolense* sp. nov. is one of three rhizobial genotypes identified which nodulate and form nitrogen fixing symbioses with *Medicago ruthenica* [(L.)Ledebour]. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.48, p.13-22, 1998.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, p.703-707, 1987.

VANCURA, V.; KUNC, F. (Ed.). **Soil Microbial associations: control of structures and functions**. Amsterdam: Elsevier, 1988. 498p. (Developments in agricultural and managed forest ecology 17).

712 Literatura Citada

VANCURA,V.; KUNC, F. (Ed.). Interrelationships between microorganisms and plants in soil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, DEVELOPMENTS IN SOIL SCIENCE, 18., 1989, Amsterdam. **Proceedings...** Amsterdam: Elsevier, 1989. 492p.

VANDAMME, P.; GORIS, J.; CHEN, W-M.; DE VOS, P.; WILLEMS, A. *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov., nodulate the roots of tropical legumes. **Systematic and Applied Microbiology**, Jena, v.25, p.507-512, 2002.

VANDAMME, P.; COENYE, T. Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.54, p.2285-2289, 2004.

Van de WERF, H.; VERSTRAETE, W. Estimation of active soil microbial biomass by mathematical analysis of respiration curves: relation to conventional estimation of total biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.3, p.267-271, 1987.

VANEECHOUTTE, M.; KAMPFER, P.; DE BAERE, T.; FALSEN, E.; VERSCHRAEGEN, G. *Wautersia* gen. nov., a new genus accommodating the phylogenetic lineage including *Ralstonia eutropha* and related species, and proposal of *Ralstonia* [*Pseudomonas*] *syzygii* (Roberts et al. 1990) comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, p. 317-327, 2004.

VAN ELSAS, J.D.; TREVORS, J.T.; WELLINGTON, E.M.H. (Ed.). **Modern soil microbiology**. New York: Marcel Dekker, 1997. 683p.

VAN VUURDE, J.W.L.; VAN DER WOLF, J.K. The use of antibody techniques in soil. In: ALEF, K.; NANNIPIER, P. (Ed.). **Methods in applied microbiology and biochemistry**. London: Academic Press, 1995. p.452-462.

VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.4, n.1, p.17-21, jan./abr. 1980.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Eficiência de inoculantes comerciais e de estirpes de *Rhizobium* para seis leguminosas forrageiras em um solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n 3, p. 357-362, 1981.

VARGAS, M.A.T.; DENARDIN, N.D.; VAN BERKUM, P. Tolerância de rizóbios nativos do feijoeiro a antibióticos e sua relação com fatores de acidez do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 16, p.331-336, 1992.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I.C.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. **Fixação biológica do nitrogênio em centrosema em solos de cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1993.14p. (EMBRAPA-CPAC. Boletim de Pesquisa, 35).

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I.C.; PERES, J. R. R.; SUHET, A. R. Resposta da lentilha à inoculação e à adubação nitrogenada em um solo de cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 8, p. 147-149, 1994.

VARGAS, L.K.; SCHOLLES, D. Nitrogênio da biomassa microbiana, em solo sob diferentes sistemas de manejo, estimado por método de fumigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.3, p.411-418, jul./set. 1998.

VASSE, J.; DE BILLY, F.; CAMUT, S., AND TRUCHET, G. Correlation between ultrastructural differentiation of bacteroids and nitrogen fixation in alfalfa nodules. **Journal of Bacteriology**, v. 172, p.4295-4306, 1990.

VELAZQUEZ, E.; IGUAL, J.M.; WILLEMS, A.; FERNANDEZ, M.P.; MUNOZ, E.; MATEOS, P.F.; ABRIL, A.; TORO, N.; NORMAND, P.; CERVANTES, M.; GILLIS, M.; MARTINEZ-MOLINA, E. *Mesorhizobium chacoense* sp. nov., a novel species that nodulates *Prosopis alba* in the Chaco Arido region (Argentina). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v.51, p.1011-1021, 2001.

VERPOORTE, R. Plant secondary metabolism. In: R.VERPOORTE, A.W. ALFERMANN (Ed.) **Metabolic engineering of plant secondary metabolism**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.1-29, 2000.

VESSEY, J.K. Measurement of nitrogenase activity in legume root nodules: In defense of the acetylene reduction assay. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.158, n.2, p.151-162, Jan. 1994.

VICTORIA, R.L.; PICCOLO, M.C.; VARGAS, A.T. O ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Ed.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira do Solo, 1992. 360p.

VIEIRA, R.F.; PERES J.R.R. Fungos ectomicorrízicos para Pinus spp. cultivados em solos sob vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.14, n.1, p.33-39, jan./abr. 1990.

VIERHEILIG, H.; ALT, M.; NEUHAUS, J.-M.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Colonization of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants, expressing different forms of *Nicotiana tabacum* chitinase, by the root pathogen *Rhizoctonia solani* and by the mycorrhizal symbiont *Glomus mosseae*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v.6, p.261-264, 1993.

VINCENT, J.M. **A manual for practical study of the root-nodule bacteria**. Oxford: Scientific Publications, 1970. 164p.

VINCENT, J.M. Factors controlling the legume-Rhizobium symbiosis. In: NEWTON, W.E.; ORME-JOHNSON, W.H. (Ed.). **Nitrogen fixation**. Baltimore: University Press, 1980. p.103-129.

VINUESA, P.; LEON-BARRIOS, M.; SILVA, C.; WILLEMS, A.; JARABO-LORENZO, A.; PEREZ-GALDONA, R.; WERNER, D.; MARTINEZ-ROMERO, E. *Bradyrhizobium canariense* sp. nov., an acid-tolerant endosymbiont that nodulates endemic genistoid legumes (Papilionoideae: Genisteae) from the Canary Islands, along with *Bradyrhizobium japonicum* bv. genistearum, *Bradyrhizobium* genospecies alpha and *Bradyrhizobium* genospecies beta. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p.569-575, 2005.

VOLPON, A. G. T.; DE-POLLI, H.; DOBEREINER, J. Physiology of nitrogen fixation in *Azospirillum lipoferum* Br 17 (ATCC 29709). **Archives of Microbiology**, Berlin, v.128, p.371-375, 1981.

VON DER WEID, I.; FROIS DUARTE, G.; VAN ELSAS, J. D.; AND SELDIN, L. *Paenibacillus brasiliensis* sp. nov., a novel nitrogen-fixing species isolated from the maize rhizosphere in Brazil. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.52, p.2147-2153, 2002.

VORONEY, R.P.; VAN VEEN, J.A.; PAUL, E.A. Organic C dynamics in grassland soils. 2. Model validation and simulation of long term effects of cultivation and rainfall erosion. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v.61, n.2, p.211-224, May 1981.

WAGNER, G.H.; WOLF, D.C. Carbon transformations and soil organic matter formation In: SYLVIA, D.M.; FUHRMANN, J.J.; HARTEL, P.G.; ZUBERER, D.A. (Ed.). **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey, 1998. p.218-258.

WALKER, T.S.; BAIS, H.P.; GROTEWOLD, E.; VIVANCO, J.M. Root exudation and rhizosphere biology. **Plant Physiology**, v.132, p.44-51, 2003.

WALLACE, R.H.; LOCHHEAD, A. G. Qualitative studies of the soil microorganisms. VIII Influence of various crops on the nutritional groups of soil bacteria. **Soil Science**, Baltimore, v.67, p.63-69, 1949.

WANG, E.T.; ROGEL-HERNADEZ, A.; SANTOS, A.G.; MARTINEZ-ROMERO, J.; CEVALLOS, M.; MARTINEZ-ROMERO, E. *Rhizobium etli* bv. Mimosae, a novel biovar isolated from *Mimosa affinis*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.49, p.1479-1491, 1999.

WANG, E.T.; VAN BERKUM, P.; SUI, X.H.; BEYENE, D.; CHEN, W.X.; MARTINEZ-ROMERO, E. Diversity of rhizobia associated with *Amorpha fruticosa* isolated from Chinese soils and description of *Mesorhizobium amorphae* sp. nov.

International Journal of Systematic Bacteriology, Reading, v.49, p.51-65, 1999.

WANG, E.T.; TAN, Z.Y.; WILLEMS, A.Y.; FERNANDEZ-LOPEZ, M.; REINHOLD-HUREK, B.; MARTINEZ-ROMERO, E. *Sinorhizobium morelense* sp. nov., a *Leucaena leucocephala*-associated bacterium that is highly resistant to multiple antibiotics. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p.1687-1693, 2002.

WATANABE, I.; ROGER, P.A. Nitrogen fixation in wetland rice field. In: SUBBA-RAO, N.S. (Ed.) **Current developments in biological nitrogen fixation**. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Company, 1984. p.237-276.

WATERBURY, J.B.. The Cyanobacteria-Isolation, Purification, and identification. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. (Ed.). **The Prokaryotes**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. V.II, chap. 97.

WEAVER, R.W.; DANSO, S.K.A. Dinitrogen fixation. In: WEAVER, R.W.; ANGLE, J.S.; BOTTOMLEY, P.S. (Ed.). Methods of soil analysis. Part 2- **Microbiological and Biochemical Properties**. Madison: SSSA, 1994. p.1019-1045. (SSSA Book Series, 5)

WEBER, A.; NURMIAHO-LASSILA, E.L.; SUNDMAN, V. Features of the intrageneric *Alnus-Frankia* specificity. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.70, n.2, p.289-296, June 1987.

WEBLEY, D.M.; HENDERSON, E.K.; TAYLOR, F. The microbiology of rocks and weathered stones. **Journal of Soil Science**, Oxford, v.14, n.1, p.102-112, Mar. 1963.

WEETALL, H.H. Immobilized enzymes and their application in the food and beverage industry. **Process Biochemistry**, v.10, p.3-24, 1975.

WEI, G.H.; WANG, E.T.; TAN, Z.Y.; ZHU, M.E.; CHEN, W.X. *Rhizobium indigoferae* sp. nov. and *Sinorhizobium kummerowiae* sp. nov., respectively isolated from *Indigofera* spp. and *Kummerowia stipulacea*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.52, p.2231-2239, 2002.

WEI, G. H.; TAN, Z. Y.; ZHU, M. E.; WANG, E. T.; HAN, S. S.; CHEN, W. X. Characterization of rhizobia isolated from legume species within the genera *Astragalus* and *Lespedeza* grown in the Loess Plateau of China and description of *Rhizobium loessense* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 1575-1583, 2003.

WEIDNER, STEFAN; PUHLER, ALFRED; KUSTER, HELGE. Genomics insights into symbiotic nitrogen fixation. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p. 200-205, 2003.

WICK, B.; KÜHNE, R.F.; VLEK, P.L.G. Soil microbiological parameters as indicators of soil quality under improved fallow management systems in south-western Nigeria. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.202, p.97-107, 1998.

WIDDEL, F.; HANSEN, T.A. The dissimilatory sulfate and sulfur reducing bacteria. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. (Ed.). **The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria, ecophysiology, isolation, identification, applications**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. v.1, p.583-624.

WIETHOLTER, S. Revisão das recomendações de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. **Anais... IV REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO**, UFRGS, Porto Alegre, 14-16 de outubro de 2002. 28p. (CD-ROM).

WILCOX, H.E. Mycorrhizal Associations. In: NAKAS, J.P. ; HAGEDORN, C. (Ed.). **Biotechnology of plant-Microbe Interactions**. New York: McGraw-Hill, 1990. p.227-255.

WILLEMS, A.; FERNANDEZ-LOPEZ, M.; MUNOZ-ADELANTADO, E.; GORIS, J.; DE VOS, P.; MARTINEZ-ROMERO, E.; TORO, N.; GILLIS, M. Description of new *Ensifer* strains from nodules and proposal to transfer *Ensifer adhaerens* Casida 1982

to *Sinorhizobium* as *Sinorhizobium adhaerens* comb. nov. Request for an opinion. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.53, p.1207-1217, 2003.

WILSON, J.R. (Ed.). **Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems**. CAB International, Wallingford, 1988. 428 p.

WILSON, P.W. Assymbiotic nitrogen-fixation. In: RUHLAND, W. (Ed.). **Handbuck der Pflanzenphysiologie**. Berlin: Springer Verlag, 1974. p.8-9. APUD: MULDER, E.G.; BROTONEGORO, S. 1974. Free-living heterotrophic nitrogen-fixing bacteria. In: QUISPTEL, A. (Ed.). **The biology of nitrogen fixation**. Amsterdam: N. Holl. Publishers Company, 1958. v.3, p.37-84.

WOESE, C.R. **Bacterial Evolution**. Microbiological Reviews, Washington, v.51, n.2, p.221-271, 1987.

WOESE, C.R. Prokaryote Systematics: Chapter 1. The Evolution of a Science. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. (Ed.). **The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria, ecophysiology, isolation, identification, applications**. 2.ed. New York: Springer-Verlag, 1991. v.1, p.3-18.

WOESE, C.R.; KANDLER, O.; WHEELIS, M.L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archae, bacteria and Eucarya. **Proceedings of the National Academy Science**, v.87, p.4576-4579, 1990.

WOESE, C.R.; MAGRUM, L.J.; FOX, G.E. Archaeobacteria. **Journal of Molecular Evolution**, New York, v.11, p. 245-252, 1978.

WOOD, P.M. Nitrification as a bacterial energy source. In: PROSSER, J.I. (Ed.). **Nitrification**. Special Publications of the Society for General Microbiology, v.20, p.39-62, 1986.

WOOMER, P.L.; SWIFT, M.J. **The Biological Management of Tropical Soil Fertility**. Chichester: John Wiley & Sons, 1994, 243 p.

WOJCIECHOWSKI, M. F.; LAVIN, M.; SANDERSON, M. J.; Phylogeny of Legumes (Leguminosae) Based on Analysis of the Plastid *MATK* Gene Resolves Many Well-Supported Subclades within the Family. **American Journal of Botany**, v. 91, n.11, p. 1846-1862, 2004.

WRAGE, N.; VELTHOF, G.L.; van BEUSICHEM, M.L.; OENEMA, O. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.1723-1732, 2001.

WRIGHT, S.F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J.B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.181, p.193-203, 1996.

WRIGHT, S.F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalina, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.198, p.97-107, 1998.

XIE, C-H.; YOKOTA, A. *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 55, p. 1435-1438, 2005.

XU, L.M.; GE, C.; CUI, Z.; LI, J.; FAN, H. *Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov., isolated from the root nodules of soybeans. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Reading, v.45, n.4, p.706-711, 1995.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y.; OYAIZU, H.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y.; EZAKI, T.; ARAKAWA, M. Proposal of *Burholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burholderia cepacia* (Palleroni and Holmes, 1981) comb. nov. **Microbiology and Immunology**, v.36, p.1251-1275, 1992.

716 Literatura Citada

- YAMAGISHI, M.; YAMAMOTO, Y. Effects of boron on nodule development and symbiotic nitrogen fixation in soybean plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v.40, n.2, p.265-274, 1994.
- YANG, C.-H.; CROWLEY, D.E.; MENGE, J.A. 16S rDNA fingerprint of rhizosphere bacterial communities associated with healthy and *Phytophthora* infected avocado roots. **FEMS Microbial. Ecology**, v. 35, p.129-136, 2001.
- YANG, W.-C.; HORVATH, B. H. J.; VAN KAMMEN, A.; BISSELING, T.; In situ localization of *Rhizobium* mRNAs in pea root nodules: NifA and NifH localization. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v.7, p. 276-315, 1991.
- YAO, Z. Y.; KAN, F. L.; WANG, E. T.; WEI, G. H; CHEN, W. X.. Characterization of rhizobia that nodulate legume species of the genus *Lespedeza* and description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p. 2219-2230, 2002.
- YE, R.W.; AVERILL, B.A.; TIEDJE, J.M. Denitrification: production and composition of nitric oxide. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.60, n.4, p. 1053-1058, 1994.
- YOU, C.B.; ZHOU, F.Y.; ZHANG, D.D.; WANG, H.X.; YUAN, H.L. In: Bothe, H.; Bruijn, F.J.; Newton, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation: Hundred years after**. New York: Gustav Fisher, 1988. p.802.
- YOU, I.D.; FUJII, T.; SANO, Y.; KOMAGATA, K.; YONEYAMA, T.; IYAMA, S.; HIROTA, Y. Dinitrogen fixation of rice-*Klebsiella* associations. **Crop Science**, Madison, v.26, n.2, p.297-301, Mar./Apr. 1986.
- YOUNG, J.M.; KUYKENDALL, L.D.; MARTINEZ-ROMERO, E.; KERR, A.; SAWADA, H. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, Reading, v.51, p.89-103, 2001.
- YOUNG, J.M. The genus name *Ensifer* Casida 1982 takes priority over *Sinorhizobium* Chen et al. 1988, and *Sinorhizobium morelense* Wang et al. 2002 is a junior synonym of *Ensifer adhaerens* Casida 1982. Is the combination '*Sinorhizobium adhaerens*' (Casida 1982) Willems et al. 2002 legitimate? Request for an Opinion. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 2107-2110, 2003.
- YOUNG, J.P.W. Molecular evolution in diazotrophs: Do the genes agree? In: PEDROSA, F.O. HUNGRIA, M.; YATES, M.G.; NEWTON, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation: from molecules to crop productivity**. Kluwer Academic Publishers, 2000. p.161-164.
- YOUNG, J.P.W. Phylogenetic classification of nitrogen fixing organisms. In: STACEY, G.S.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992. p.43-85.
- ZHANG, Z.; LOPEZ, M.F.; TORREY, J.G. A comparison of cultural characteristics and infectivity of *Frankia* isolates from nodules of Casuarina species. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.78, n.1/2, p.79-90, 1984.
- ZHANG, Z.; TORREY, J.G. Studies of an effective strain of *Frankia* from *Allocauarina lehmanniana* of the Casuarinaceae. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.87, n.1, p.1-6, 1985.
- ZHONGZE, Z.; MURRY, A.; TORREY, J.G. Culture conditions influencing growth and nitrogen fixation in *Frankia* sp HFPC c13 isolated from casuariana. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.91, n.1, p.3-15, 1986.

Índice Remissivo

A

- Absorção: 71, 80, 85, 115, 122, 158, 167, 178, 196, 234, 235, 241, 242, 245, 252, 259, 266, 268, 275, 280, 282, 299, 314, 330, 339, 340(fig), 344, 345(fig), 354, 361, 366, 368, 371, 374, 378-381, 389, 392, 395, 398, 407, 417-419, 432, 434, 442, 453, 514, 551, 552, 558, 576, 578(fig), 584, 585, 599, 605-608, 609(fig), 610-616, 647, 648, 650, 651(fig), 653, 654
- Ação biofertilizante: 600(fig), 650
- Ação bioprotetora: 278
- Aceptor de elétrons: 51, 127, 178
- Acetobacter*: 51, 179, 455, 466, 469, 475
- Acetogênese: 39, 43(fig)
- Acidez do solo: 253, 286, 517, 558, 587, 588
- Acidófilos: 117
- Ácido benzóico: 270, 284, 426
- Ácido fusárico: 244
- Ácido propiônico: 178
- Ácido teicóico: 34, 35(fig), 155
- Ácidos fenólicos: 238, 242, 426, 590
- Ácidos fúlvicos: 229, 233, 234(fig)
- Ácidos húmicos: 229, 233
- Actinobacteria (ver Actinomiceto): 56, 117, 150
- Actinomiceto (ver Actinobacteria): 11, 56, 59, 103, 111(fig), 114, 117, 122, 125(fig), 133, 135, 144, 181, 192, 206, 216, 219, 245, 291, 295, 306, 307, 354, 373, 375, 387, 408, 418, 422, 425(fig), 426(fig), 439, 442, 454, 459, 465, 479, 518, 588, 590
- Actinorrízica: 479
- Actinorrizosfera: 408
- Açúcares: 30, 114, 172, 174, 178, 212, 213, 221, 235, 340, 344, 383, 410, 415, 422, 585, 586
- Adubação verde: 381, 477, 501, 539, 539(fig)
- Afinidade genética: 465
- Agentes agregantes: 103, 104(fig), 610
- Agregados do solo: 90(fig), 91(fig), 412, 432, 617
- Agricultura orgânica: 12, 621
- Agricultura sustentável: 621
- Agrobacterium*: 12, 144, 288, 292, 293(fig), 294, 309, 394, 499, 564, 570, 625
- Agroquímicos: 12, 328, 596, 621
- Agrossistemas: 163, 221, 257, 258, 316, 320, 356, 590, 591, 593, 599, 612, 621, 629(fig)
- Aldicarbe: 269, 290, 290(fig), 291, 292(fig), 303, 626
- Aléias: 538
- Alelopático/Alelopatia/Aleloquímico(s): 133, 411 / 132, 236(fig), 236, 238, 241, 243, 244(fig), 426, 428, 590, 614, 617
- Algas: 39, 60, 63, 64, 74, 77, 130, 144, 219, 255, 257, 271, 421, 544
- Amazônia: 150(fig), 193, 195, 223, 330, 477, 487, 499, 502, 517, 524, 526, 635
- Ambiente coloidal: 122
- Ameba: 19, 63, 344, 429
- Amensalismo: 132
- Amidas: 270, 352, 415
- Amilopectina: 219
- Aminoácidos: 30, 34(fig), 110, 114, 176, 178, 212, 233, 235, 285, 294, 295, 340, 341, 344, 350, 354, 381, 383-385, 410, 415, 420, 422, 559, 562, 585, 591, 614
- Amonificação: 157, 241, 275, 340(fig), 341, 356, 432
- Anabolismo: 166(fig), 168, 169, 171
- Anaerobiose: 39, 171, 178, 275, 331, 357, 394
- Análise do DNA: 12, 155
- Anamorfo: 551, 635
- Anécicos: 79
- Anóxicos: 62, 176, 180, 296, 301, 331
- Antagonista/Antagonismo: 181, 274, 423, 425(fig), 439, 441, 442, 443(fig), 445(fig), 446, 518, 588, 590, 627, 657/418, 422, 429
- Antibiose/Antibióticos: 132, 245 / 11, 56, 59, 60, 122, 132, 142, 144, 181, 244, 245, 383, 422, 440, 442, 446, 518, 524, 562
- Apressório: 565, 570-572, 577(fig)
- Aquecimento global: 326, 330,

718 Índice Remissivo

332, 357, 361, 364
 Arbúsculos: 548, 549(fig), 554,
 557, 562, 566, 570, 573, 575,
 576, 578, 579, 608, 631
 Archaea: 20, 22, 24, 25, 30, 39,
 45, 51, 53, 62
 Archaeobacteria: 24, 25, 54, 122,
 458(fig), 459
Archaeospora: 555
 Áreas degradadas: 190, 193,
 481, 545, 621, 623
 Aromáticos halogenados: 54
 Arroz: 54, 178, 180, 241, 252,
 265, 332, 348, 356, 363, 440,
 473, 541, 542(fig), 608
Arthrobacter: 215, 291, 304, 386,
 387, 420, 422, 425(fig)
 Artrósporos: 74
 Árvore filogenética: 25(fig),
 29(fig)
 Ascomycota: 68, 74, 76(fig), 635
 Ascós: 71, 74, 75(fig)
 Ascósporos: 71, 74, 75(fig)
 Assimilação de amônio: 245(fig)
 Associações peritróficas: 544
 Associações simbióticas: 77
 Associativa: 13, 441, 455, 469,
 473
 Atividade decompositora: 204,
 273
 Atividade enzimática: 94(fig),
 122, 159, 168(fig), 183, 186,
 187, 187(fig), 189, 190, 196,
 234, 279, 302, 551, 565
 Atividade heterotrófica: 189, 196,
 197, 227, 273, 295, 306, 307,
 551, 611
 Atividade ligninolítica: 217
 Atividade metabólica específica:
 196
 Atividade microbiana: 11, 79, 98,
 103, 106, 122, 127(fig), 130,
 136, 157, 189, 220, 235, 239,
 246, 250, 251, 276, 278, 308,
 318, 324, 346(fig), 348, 373,
 374, 385
 Atividade respiratória: 121, 204,
 253
 Atrazina: 267, 279, 280, 289,

292, 293(fig), 308, 309
 Autóctones: 20, 181
 Autotróficos: 18, 19, 51, 115,
 163, 166(fig), 171, 376, 544
 Auxotróficos: 110, 144
 Axênica: 410, 559, 562, 563,
 625, 658
Azolla: 454, 477, 478, 478(fig),
 542(fig)
Azorhizobium: 455, 457(fig), 479,
 493, 498, 500, 504, 521,
 522(fig), 523(fig)
Azospirillum: 273, 288, 304, 419,
 440, 451, 454, 455, 469, 471,
 471(fig), 473, 541, 542(fig)
Azotobacter: 11, 99, 108, 217,
 219, 273, 288, 423, 425(fig),
 440, 453, 465, 469, 473,
 542(fig), 591

B

Bacillus: 11, 12, 19, 26, 44, 56,
 103, 105(fig), 117, 122, 132,
 215-217, 219, 245, 265, 273,
 277, 288, 291, 304, 351, 357,
 377, 378, 387, 396, 400-402,
 408, 418, 420, 423, 440, 459,
 465, 542(fig)
Bacillus radicolica: 11
Bacillus thuringiensis: 219, 265
 Bactérias: 1, 11, 12, 17, 19, 20,
 25, 30, 33(fig), 34(fig), 34,
 37(fig), 38(fig), 44, 47, 51, 53,
 54, 56, 58(fig), 59, 60, 62, 63,
 69, 74, 80, 89, 90, 90(fig), 91,
 93, 95, 98, 102, 103, 110,
 111(fig), 114, 115, 117, 121-
 123, 125(fig), 126, 129, 131-
 135, 144, 148-150, 150(fig),
 155, 171, 176-178, 180, 189,
 192, 195, 196, 197(fig), 198,
 204, 206, 214-217, 219, 221,
 241, 244-246, 253, 273, 277,
 288, 291, 295, 295(fig), 296-
 299, 303, 304, 306, 309, 315,
 323, 331, 332, 334, 336, 344,
 349-351, 353, 354, 357-361,
 369, 373-379, 381, 383, 385-
 387, 392, 394, 396, 400-402,

418, 420, 422, 425(fig), 426,
 428, 429, 431, 432, 439-441,
 441(fig), 442, 449, 453, 455,
 456, 458(fig), 459, 465,
 466(fig), 469, 471, 473, 476,
 477, 481, 482(fig), 484, 485,
 493, 499, 500, 501(fig), 504,
 506(fig), 507, 518, 519, 524,
 527, 535, 542(fig), 553, 588,
 590, 591, 612
 Bactérias desnitrificantes: 358,
 359, 361
 Bactérias diazotróficas: 379, 381,
 455, 465
 Bactérias endofíticas: 418, 432,
 473
 Bactérias halofílicas: 123
 Bactérias metanotróficas: 331
 Bactérias metilotróficas: 178
 Bactérias nitrificantes: 178, 241
 Bactérias nodulíferas: 471
 Bactérias púrpuras: 62
 Bacterização: 378
 Bacteróide(s): 139, 471, 482(fig),
 500, 510
 Bacteriófago(s): 80, 81(fig)
 Baixa degradabilidade: 193, 199,
 272, 280, 289, 299, 304, 306,
 335
 Balanço da decomposição:
 255(fig)
 Bases de dados: 458
 Basidiocarpos: 76, 395
 Basidiósporos: 71, 141
 Basidiomycota: 68, 74, 77(fig),
 635
 Basófilos: 117
 Bastões pleomórficos: 56
 Bastonetes: 36, 288
 Benefícios nutricionais: 613, 614,
 628
 Benomil: 279, 280
 Betaínas: 502
 Benzimidazoles: 596
 Benzoxazolinonas: 239
 Bifenil-clorados: 284, 289
 Bioacumulação: 273, 389, 395,
 654(fig), 654
 Bioaugmentação: 303, 308, 309

- Biociclagem: 314, 316(fig), 389
 Biocidas: 610, 621, 626
 Bioconcentração: 272
 Biocontrole: 106, 244, 441, 614, 656
 Biodegradabilidade: 220
 Biodegradação: 184, 187, 193, 213, 217, 265, 268, 272, 273, 281, 282, 285-288, 289(fig), 290, 291, 294, 297, 299, 300(fig), 300, 302-304, 306-309, 329, 331, 389
 Biodegradação acelerada: 291, 301-303
 Biófagos: 19
 Biofumigação do solo: 241
 Biolixiviação: 54, 391
 Biologia molecular: 12, 20, 23, 54, 80, 459, 493
 Biomagnificação: 268
 Biomarcadores: 155
 Biomassa ativa: 196, 199, 283
 Biomassa fúngica: 608, 617
 Biomassa microbiana: 12, 79, 93, 135, 138, 152, 153(fig), 154(fig), 158, 160, 168, 172, 181, 191(fig), 192, 195, 196, 197(fig), 199, 200, 209(fig), 212, 213, 229, 253, 256, 301, 307, 316, 338, 344, 348, 348(fig), 369, 373, 374, 380, 383, 384, 389, 391, 393, 434
 Biometalurgia: 391
 Biopolímero: 114, 309, 396
 Biorremediação: 294, 303, 304, 306, 308, 309, 309(fig), 310, 395, 403, 617
 Biossorção: 308, 395, 396, 616
 Biossegurança: 332, 378
 Biossólido: 256, 263, 334, 335, 335(fig), 336, 337, 401
 Biosuper: 376
 Biotecnologia: 14, 378, 446, 476, 537, 538
 Biotransformação: 183, 190
 Biotróficos: 544, 559, 562, 564, 578, 595
 Biotrófico obrigatório: 558
 Bioventilação: 304, 308
 Bolores gosmentos: 63, 68
Bradyrhizobium: 455, 458, 481, 493, 498, 499-502, 504, 514, 515, 517(fig), 522(fig), 523(fig), 524, 527, 538, 541
Burkholderia: 465, 469, 499, 514
C
 Cadaverícolas: 20
 Cadeia trófica: 163, 206, 246, 268, 272, 285, 335, 395, 398, 633
 Caesalpinioideae: 487, 489, 491(fig), 507, 514, 633
 Cafeeiro: 241, 291, 292(fig), 546, 584, 590, 593, 594, 599, 605(fig), 605, 611, 622, 623, 623(fig), 624, 627
 Cafeína: 241, 243(fig)
 Calagem: 14, 135, 336, 353, 386, 424, 426, 442, 514, 516(fig), 517, 518, 520, 586, 587(fig), 587-589, 593, 628
 Cana-de-açúcar: 200, 232, 241, 473, 475
 Capacidade de nodulação: 489, 513
 Características fenotípicas: 145
 Características genéticas: 19, 30, 54, 56, 148, 465
 Carbamatos: 263, 270, 290, 291, 309
 Carbofuran: 302, 302(fig)
 Carbono orgânico: 144, 163, 192, 213, 225, 232, 257, 329
 Carbono respirado: 204
 Carnívoros: 19, 163
 Carpóforo: 76, 635
 Catabolismo no solo: 178
 Catalisadores biológicos: 184
 Catalase: 39, 187, 190, 400, 401
 Categorias taxonômicas: 20, 483
 Celobiose: 188, 215
 Células eucarióticas: 30, 33(fig), 129
 Célula microbiana: 124(fig), 170, 185, 187, 217, 373, 400
 Celulolíticos: 215, 459
 Celulose: 44, 56, 68, 91, 95, 204, 209(fig), 213, 214, 215(fig), 215-217, 219-221, 225, 260, 481
 Cerrado: 198, 223, 252, 291, 325, 330, 348, 367, 370, 487, 514, 520, 524, 546, 580, 581(fig), 584, 588, 591, 593, 612, 613, 623, 627, 629(fig), 635, 650
 Chalconas: 502
 Chlorobiaceae: 62
 Chloroflexaceae: 62
 Chromista: 25, 68, 553
 Chytridiomycota: 63, 68, 71, 72(fig)
 Cianobactérias: 30, 39, 59, 59(fig), 60, 74, 77, 78, 90, 117, 118(fig), 130, 280, 449, 454, 454(fig), 456, 459, 465, 476, 477, 542(fig), 553
 Ciclagem de nutrientes: 17, 130, 213, 259, 317, 648
 Ciclagem biogeoquímica: 84, 316
 Ciclo de Calvin: 39, 41(fig), 351
 Ciclo de Krebs: 174, 175(fig), 179, 344
 Ciclo do cádmio: 399(fig)
 Ciclo do carbono: 44, 183, 325
 Ciclo do ferro: 398(fig)
 Ciclos biogeoquímicos: 39, 314
 Ciliados: 39, 63
 Cistos: 63, 107, 108, 187, 336
 Clamidósporos: 71
 Classes de enzimas: 184
 Clordane: 269, 272
 Cloroplastos: 30, 64
 Clorotalonil: 297
 Cobertura vegetal: 14, 99, 109, 110, 198, 306, 628
 Cocos: 36
 Coeficiente de sorção: 268
 Colêmbolas: 79, 246, 429, 590, 610
 Coliformes fecais: 336
 Colóides do solo: 158, 187, 355
 Colonização endofítica: 419
 Colonização intercelular: 141, 570

720 Índice Remissivo

- Colonização micorrízica: 280, 426, 564, 570, 578, 581, 583(fig), 584, 586, 587(fig), 589, 594, 595, 599, 614, 628, 631(fig), 654
- Comensalismo: 131
- Co-Metabolismo: 282, 284, 285, 292, 296, 306
- Componentes bióticos: 83, 85, 123(fig), 160, 266(fig), 316
- Competição: 126, 132, 144, 217, 254, 276, 379, 434, 440, 477, 483, 656
- Competitividade e adaptação: 527
- Complexo argila-matéria orgânica: 97(fig)
- Composição orgânica: 220, 313, 334
- Compostagem: 254-256, 308, 336
- Compostos aromáticos: 213, 217, 233, 235, 238, 242, 285, 299, 318, 335, 354, 426, 570, 575, 590, 615, 631
- Compostos fenólicos: 220, 233, 238, 331, 426, 541, 570, 571, 590
- Compostos orgânicos bioativos: 613
- Comprimento de hifas: 102, 618(fig)
- Comunidade biológica: 84, 110, 135
- Comunidade fúngica: 593
- Comunidade microbiana: 11, 106, 145, 155, 176, 181, 199, 203, 241, 250, 273, 276-279, 282, 300, 301, 307, 330, 418, 423, 424, 426, 446, 501, 657
- Comunidades pioneiras: 134
- Concentração de células: 526, 537
- Condições axênicas: 410, 562, 625
- Conídio: 59, 71, 74, 280, 552
- Conidióforos: 71
- Coníferas: 217, 548, 550, 639, 650, 658, 660
- Conteúdo estável de COS: 225
- Controle biológico: 12, 14, 17-19, 56, 77, 80, 130, 245, 246, 260, 328, 412, 429, 432, 439-442, 443(fig), 446, 473
- Constituição genética: 22
- Conseqüências ecológicas: 263, 329
- Contaminação: 1, 56, 83, 135, 191, 193, 197, 263, 282, 291, 292, 296, 310, 333, 336-338, 355, 395, 521, 528, 615, 625, 658
- Copiotróficos: 20, 181
- Coprófagos: 20
- Corantes fluorescentes: 12, 141, 142
- Cordão de infecção: 504
- Corpos de frutificação: 68, 76, 578, 647, 652, 660
- Crescimento micelial: 122, 560, 560(fig), 561(fig), 562, 563, 585, 589, 590
- Criófilos: 128
- Criopreservação: 129
- Cronômetros moleculares: 12, 23
- Crucíferas: 241, 383, 554, 570, 577
- Cultivo conservacionista/Cultivo intensivo: 324 / 12, 103, 193, 225, 325, 340, 621
- Cultivo *in vitro*: 559, 562, 564
- Cultivo mínimo: 14, 193, 195, 204, 224, 226, 585, 587
- Cultivos irrigados: 178
- Cultivos transgênicos: 265, 294
- Culturas consorciadas: 538, 612
- Cutina: 219
- Cytophaga*: 44, 62, 215, 216
- D**
- DDT: 267-269, 272, 281, 285, 297, 298(fig)
- Declínio da monocultura: 594
- Decomposição de celulose: 44
- Decomposição de resíduos orgânicos: 76, 209(fig)
- Decomposição de xenobióticos: 17
- Decompositores anaeróbios: 216
- Decompositor da lignina: 217
- Déficit de P: 611, 628
- Déficit hídrico: 613, 653
- Degradabilidade do substrato: 193
- Degradação do glifosato: 294, 295(fig)
- Dejetos e resíduos: 338
- Dependência micorrízica: 601, 602, 626, 630
- Desaminação hidrolítica: 343
- Desclorinação respiratória: 296
- Deshalogenação: 286, 296, 297, 297(fig)
- Desmatamento: 223, 315, 320, 324, 325, 340, 477
- Dependência micorrízica: 601, 602, 626, 630
- Desalquilação: 292, 293
- Desclorinação: 292, 293, 296, 297, 298(fig), 298
- Deserto nutricional: 85, 109, 172
- Desidrogenases: 93, 159, 186, 190
- Desnitrificação: 11, 47, 121, 176, 241, 275, 339, 340(fig), 344, 354, 355(fig), 357-359, 360(fig), 361, 362(fig), 363, 368, 386, 432
- Desnitrificadores: 179, 180, 361, 362
- Despolimerização enzimática: 181
- Destoxificação: 239, 273, 281, 282, 286, 291, 299, 303, 390(fig), 394, 400, 591, 653
- Detritívoro: 20
- DGGE: 156, 424
- Diaminopimélicos: 155
- Diazotróficos: 62, 114, 120, 159, 449, 451, 453, 455, 459, 465, 469, 471, 473, 475, 476, 515, 537, 541, 608
- Diazotróficos associativos: 455, 469, 471, 475, 541
- Dieldrin: 269, 272, 278
- Digestão aeróbia: 334
- Diluições sucessivas: 150(fig)

- Dioxigenase: 286, 288(fig)
 Disponibilidade de nutrientes: 107, 114, 135, 160, 183, 200, 247(fig), 248, 249, 250(fig), 401, 432, 434, 541, 580, 584, 597, 625, 626
 Dissipação: 219, 238, 265, 267, 281, 291, 300, 339, 368, 403
 Distância evolutiva: 24
 Divergência filogenética: 489, 491(fig)
 Diversidade biológica: 17, 328, 439
 Diversidade das leguminosas: 489
 Diversidade de espécies: 121, 518, 541, 633
 Diversidade funcional: 17, 84
 Diversidade genética: 84, 483, 484, 558
 Diversidade metabólica: 18, 47, 169
 Diversidade microbiana: 14, 155, 156, 282, 421, 429, 446
 Diversidade morfológica: 36, 58(fig), 63, 65(fig), 74, 169, 288, 459
 DNA do solo: 12, 155, 156
 DNA recombinante: 12, 246, 303, 379
 Doador de elétrons: 394, 449
 Doliporos: 74
 Dominância: 580, 586, 591, 596, 613, 628, 630
 Domínio: 20, 25, 27(fig), 39, 54, 60, 485
 Dormência metabólica: 172
 Dreno de carbono: 325
 Dupla camada difusa: 115, 116(fig)
- E**
 Ecologia microbiana: 12, 91, 158, 179, 222, 273, 356
 Ecossistemas florestais: 181, 241, 318, 323, 599, 633, 638, 641, 650
 Ectendomicorizas: 548
 Ectomicorizas: 546, 548, 550, 577, 578, 589, 632, 633, 635, 638-641, 644, 645(fig), 646-648, 650, 653, 657, 658
 Efeito priming: 250, 251, 251(fig), 252, 309, 374
 Efeito estufa: 317, 323, 326, 329, 330, 361
 Efeito poluidor: 265
 Efeito rizosférico: 110, 309, 535
 Efeitos promotores: 280, 304
 Efeitos residuais: 280, 304
 Efetividade simbiótica: 606, 609
 Eficiência catalítica: 184, 185, 187
 Eficiência de utilização: 272, 356, 358, 380, 611
 Eficiência simbiótica: 502, 590, 602, 606, 620, 622, 624, 624(fig)
 Elementos poluidores/tóxicos: 335, 338, 401, 403 / 39, 116(fig), 122, 135, 138, 263, 267, 276, 282, 284, 298, 332, 354, 394, 395, 400, 403, 520, 521, 524, 578(fig), 589, 615, 616, 646, 653
 Emissão de gases: 324, 329, 330, 361
 Endêmica: 487
 Endoenzima: 186
 Endofíticos: 431, 432, 455, 481
 Endogênicos: 79
 Endoglicanase: 188, 574
 Endósporos: 56, 418
 Endossimbiose: 553
 Energia de manutenção: 198
 Engenharia genética: 12, 60, 217, 219
 Engenheiros do ecossistema: 79
Entrophospora: 555-557, 587, 591, 593, 622, 626
 Enzimas abiômicas: 94
 Enzimas hidrolíticas: 331, 432, 544, 591
 Enzimas intracelulares: 185, 187
 Enxofre: 40, 47, 51, 54, 62, 117, 174, 356, 376, 381, 382(fig), 384, 386, 387, 449, 459, 541, 542(fig)
- Epigêicos: 79
 Epígeo: 635, 638(fig), 639
 Ergosterol: 155
 Erosão dos solos: 106
 Esgotamento do carbono: 329
 Espaço periplasmático: 34
 Espaço poroso: 85, 87, 120, 335(fig), 361
 Espécies actinorrízicas: 479, 485
 Especificidade hospedeira: 485, 503, 504, 548, 589, 590
 Espirilos: 36
 Espiroquetas: 62
 Esporângios: 56, 71, 73(fig), 482, 483
 Esporóforos: 650
 Esporos/Esporulação: 39, 56, 64, 67(fig), 68, 71, 74, 76(fig), 76, 77, 108, 115, 116, 118(fig), 123, 129, 132-134, 141, 142, 187, 420, 482, 660 / 122, 123, 557-559, 562, 564, 584, 585(fig), 589, 591, 594, 595, 625, 628
 Estabilidade dos agregados: 102, 103, 106, 411, 617, 619
 Estimulantes da micorrização: 280, 590, 631
 Esterases: 189
 Estirpes: 132, 144, 145, 148, 150(fig), 293, 296, 297, 378, 379, 429, 440, 446, 471, 473, 482-485, 493, 498, 501, 502, 504, 510, 513-515, 517(fig), 518, 522(fig), 523(fig), 524-528, 534, 535, 538
 Estirpes selecionadas: 527
 Estirpes tolerantes: 514, 518, 525
 Estoque de carbono: 223, 230, 232, 318(fig)
 Estoque lábil: 230
 Estrategista: 181, 442
 Estreitamento da camada de ozônio: 261
 Estreptomina: 11, 56, 59, 195, 245, 412
 Estresse hídrico: 608, 613

722 Índice Remissivo

- Estruturas microbianas: 141, 219
 Etileno: 138, 159, 237, 244, 432, 451, 574
 Eucariotos/Eucarya/Eucaryotae: 22, 24(fig), 24, 25(fig), 25, 29(fig), 30, 39, 60, 63, 287, 288, 449 / 24, 25, 51 / 25
 Eutrofização: 320, 355, 371, 378
 Eventos fenotípicos: 568(fig)
 Excesso de metais: 197(fig), 197, 552, 589, 615
 Exoglicanase: 188
 Exoenzima: 186, 219
 Exopolissacarídeo: 91, 93, 505(fig), 515, 524
 Exploração comercial: 623, 652
 Exploração do solo: 378, 379, 607-609, 650
 Explosão populacional: 84
 Expressão gênica: 504, 571, 574, 645, 646
 Exsudação/Exsudatos: 235, 274, 539, 614 / 246, 252, 409, 410, 413, 416, 417, 419-422, 426, 432, 439, 554, 570, 578(fig), 584-586, 631, 657
- F**
 Fator N: 253, 254
 Fatores de crescimento: 110, 131, 132, 144, 290, 408, 410
 Fatores Nod: 502, 504, 541, 570, 572
 Fauna: 19, 78, 79(fig), 80, 152, 181, 196, 203, 204, 280, 316, 349, 429, 652
 Fenil propanóides: 235
 Fenoloxidase: 298, 331
 Fermentação: 1, 54, 121, 177, 178, 332, 392, 402, 660
 Fertilidade do solo: 11, 14, 185, 247, 249, 279, 355, 369, 402, 594, 602, 620
 Fertilização nitrogenada: 473, 475
 Fertilizantes minerais: 251
 Filmes de água: 122
 Filogenia de rizóbio: 504
 Firmicutes: 30, 56, 459
 Fissão binária: 59, 63
 Fitases: 374, 375
 Fitoalexina: 573-575
 Fitófagos: 19
 Fitorremediação: 309, 310, 615, 617
 Fitossimbióticos: 544
 Fitotoxicidade: 237, 239, 280, 291
 Fitotoxinas: 235, 236(fig), 617
 Flagelados/Flagelo: 39, 63 / 91, 93, 95, 108
 Flavonóides: 241, 426, 502, 564, 570-572, 574, 575, 586
 Florestas tropicais: 20, 60, 201, 203, 227, 318, 633, 640, 648
 Fluxo de energia: 14, 84, 166(fig), 171, 181, 198, 317
 Fontes de carbono: 47, 135, 144, 153, 453, 498
 Fosfatases: 373-375, 573, 576, 585, 608, 644
 Fosfobacterin: 440
 Fosfoglicéridos: 30
 Fosfolipases: 375
 Fosfolipídeos: 30, 32(fig), 37(fig), 155, 369, 373, 385
 Fosfometrinas: 244
 Fósforo: 133, 155, 294, 315, 318, 369, 372(fig), 379, 518, 541, 576, 597, 609(fig), 624, 624(fig), 652(fig)
 Formação de húmus: 130, 208
 Formas de bactérias: 38(fig)
 Formas de N-orgânico: 341
 Formononetina: 564, 570, 617, 631, 631(fig)
 Fotoaquatróficos: 18, 449
 Fotoautotróficos: 19
 Fotolitotróficos: 18, 19, 115
 Fotossintatos: 407, 450, 454, 477, 500, 510, 604
 Fotossíntese anoxigênica: 39, 60, 62
 Fotossíntese oxigênica: 39, 60
 Fotossintéticas: 30, 60, 62, 63, 90, 387, 542(fig)
 Fototrofia/Fototróficos: 39, 47 / 18, 39, 47, 51, 64, 74, 144, 169, 171, 449
 Fração húmica: 183, 229
 Fração protegida fisicamente: 231
 Fragmentação de hifa: 56, 71(fig), 74
Frankia: 215, 454, 455, 458, 459, 465, 477, 479, 481, 482(fig), 482-485, 489
 Fumigação-extração: 152, 154, 154(fig), 373
 Fumigação-incubação: 152, 154(fig)
 Fumigantes: 279
 Fungi: 20, 25, 63, 68, 152, 426, 477
 Fungicidas: 354, 478, 524, 594, 596, 610, 615, 626
 Fungívoros: 20
 Fungos: 20, 25, 39, 56, 59, 63, 64, 68, 71(fig), 71, 74, 76, 77, 89, 90, 90(fig), 98, 102, 103, 104(fig), 111(fig), 114, 116, 117, 118(fig), 122, 123, 125(fig), 133, 135, 141, 142, 144, 149, 150, 150(fig), 155, 171, 178, 180-182, 189, 192, 195, 196, 197(fig), 198, 204, 206, 215-217, 219, 221, 238, 241, 245, 253, 278, 279, 281, 287, 291, 295, 298, 304, 309, 323, 350, 352, 354, 357, 372(fig), 373, 375-379, 385-387, 392, 394-396, 400, 402, 409, 418, 426, 428, 429, 431, 432, 442, 459, 469, 476, 478, 504, 518, 519(fig), 525, 539, 543-546, 548, 549(fig), 550-555, 558, 559, 560(fig), 561(fig), 562-565, 568(fig), 570, 572, 575-580, 582, 585(fig), 586, 587(fig), 588(fig), 589-591, 592(fig), 593, 594, 596, 603(fig), 606, 607(fig), 607, 608, 614, 617, 620-622, 624, 627, 628,

629(fig), 630, 630(fig), 632,
633, 635, 638(fig), 638, 639,
641, 646, 648, 650, 652-654,
656(fig), 657-660
Fungos ectomicorrízicos: 141,
633, 635, 638-640, 646, 648,
650, 652, 655, 646(fig), 657-
660
Fungos indígenas: 624, 627
Fungos micorrízicos arbuscu-
lares: 68, 133, 141, 142, 518,
519(fig)
Fungos unicelulares: 71
Fusão somática: 74

G

Gametângios: 71, 73(fig)
Genes crípticos: 39
Genes *Cry*: 245, 246
Genes *nif*: 455, 456, 456(fig),
469, 482
Genes *nod*: 455, 502, 502(fig),
504
Geosmina: 56
Germinação: 73(fig), 115, 116,
132, 235, 237, 242, 408, 426,
446, 513, 541, 552, 559, 560,
560(fig), 561(fig), 562-564,
566, 571, 585-587, 588(fig),
589, 590
Gigaspora: 118, 154-157, 560,
562, 571, 580, 581(fig),
584(fig), 586-588, 591, 593,
617, 622, 624, 626
Gigasporineae: 554, 555, 557
Glicogênio: 77, 219
Glicoproteína: 103, 216, 575, 619
Glicose: 35(fig), 36(fig), 44,
44(fig), 102, 121, 132, 157,
173, 175, 175(fig), 187, 186,
214-216, 219, 220, 225, 378,
394, 410, 423, 471, 505(fig),
510, 609(fig)
Glicosidase: 187, 188, 215
Glicosinolatos: 241, 383, 570
Glifosato: 265, 267, 279, 280,
294, 295, 295(fig), 296(fig),
524

Glomalina: 103, 616, 617, 619,
619(fig)
Glomerales: 555, 557
Glomeraceae: 556, 557, 566
Glomeromycota: 68, 74
Glomineae: 555
Glomus: 118, 553-558, 561, 566,
571, 574, 579, 586, 587,
588(fig), 588-593, 597,
600(fig), 602, 608, 611, 612,
617, 622, 624, 626, 627, 635
Glucanases: 574
Gracilicutes: 30
Gramíneas: 11, 103, 106, 193,
195, 221, 238, 240(fig), 242,
254, 258, 280, 354, 441, 465,
469, 473, 541, 602, 612, 615,
625
Gram-positivas: 30, 34, 36,
37(fig), 56, 108, 134, 155, 245,
277, 420, 422, 602

H

Habilidade discriminatória: 579
Habitat: 14, 20, 47, 83-85, 89-
91, 93, 95, 106, 107, 109, 110,
121, 122, 127, 130, 131, 135,
141, 144, 160, 203, 235, 245,
301, 336, 411, 459, 518, 541,
543, 558, 591, 633, 657
Halofílicos: 51, 54, 122, 126
Hemicelulose: 204, 212, 216, 217
Hemoglobina: 355, 455, 483
Herbaspirillum: 454, 455, 465, 469
Herbicidas: 60, 241, 245, 265,
270, 273, 274, 279-281, 289,
294, 299, 302, 309, 354, 524,
596, 617
Heterocariose: 558
Heterocísticas: 59, 476
Heterocisto(s): 60, 454, 454(fig),
476
Heterotrofia: 60, 167, 171
Heterotróficos: 18, 39, 62, 98,
110, 115, 144, 163, 165,
165(fig), 171, 176, 187, 190,
206, 213, 220, 243, 248, 259,
260, 274, 288, 294, 306, 314,

317, 332, 339, 352, 361,
372(fig), 374-376, 384, 387,
389, 392, 402, 407, 543, 544
Hidrocarbonetos aromáticos
policíclicos (PAHs): 304
Hidrocarbonetos clorados: 269,
309
Hidrogenase: 483, 510
Hidrolases: 94, 184, 188, 293,
483, 573, 574
Hidrólise abiótica: 271
Hidrólise do DAF: 189, 190
Hidroquinonas: 426
Hifa somáticas: 556
Hifa suspensora: 556
Hifas coenocíticas: 74
Hifas esporógenas: 560
Hifas extra-radulares: 549(fig),
557, 576
Hiperparasitas: 559, 590, 591,
627
Hipógeo: 635, 638(fig), 638
Hospedeiros de ectomicorrizas:
658
Humina: 229, 233
Húmus: 17, 56, 109, 130, 183,
192, 208, 209(fig), 211, 219,
229, 233-235, 250, 255, 256,
285, 298

I

Imazaquin: 280, 617
Imobilização de enzimas: 96
Imobilização de N: 254, 348,
348(fig), 354
Impacto de pesticidas: 279
Indicadores de qualidade: 189,
190
Índices de qualidade: 159, 160
Indutores gênicos: 562
Infalibilidade microbiana: 109,
281
Influxo de nutrientes: 416, 610
Inibição enzimática: 120
Inibidores biológicos: 241
Inoculação/Inoculantes: 11, 12,
103, 105(fig), 106, 149, 150,
260, 308, 379, 434, 440-442,

724 Índice Remissivo

471, 473, 476, 484, 485, 513,
518, 524-528, 535, 537, 538,
541, 559, 598, 602, 603(fig),
605, 606, 611-613, 617, 620,
621, 623, 624, 626-628, 648,
650, 652(fig), 654, 657, 658,
660 / 280, 309, 376, 377,
379, 440, 475, 501, 502, 515,
534, 535, 537, 538, 619, 621,
657-660
Inseticidas: 245, 246, 265, 270,
277, 279, 290, 302, 354, 478,
524, 596
Insumo biológico: 628
Interações microbianas: 180,
244, 259, 356
Interações positivas: 130, 131,
134
Interações tróficas: 207(fig)
Interface solo-planta: 646, 650
Interferência antrópica: 196, 548,
580
Isoflavonóides: 280, 502, 563,
570, 572-574, 631
Isolados selecionados: 309, 624

L

Laccaria: 550, 638, 647(fig), 656,
658-660
Laccases: 216, 285
Landfarming: 263, 306, 307(fig),
308, 309(fig), 310, 403, 617
Latossolos: 223, 369
Lectinas: 504, 585
Leghemoglobina: 455
Leguminosas fixadoras: 351,
352, 415, 538, 612
Lençol freático: 165, 268, 306,
355, 398, 525
Leveduras: 63, 68, 71, 74, 102,
122, 192, 219
Liberação de CO₂: 183, 196, 249,
273, 286, 330, 344, 349
Ligação hidrofóbica: 95, 97(fig)
Lignina: 172, 184, 193, 204,
209(fig), 212, 216, 217,
218(fig), 219, 220, 225, 233,
238, 241, 575

Lípases: 189
Lipídios: 176, 219, 233, 566, 576
Líquens: 77, 78, 90, 132, 476,
544
Litotróficos: 19, 39, 171, 359
Lixiviação: 115, 165, 238, 268,
269, 308, 339, 354-356, 368,
381, 383, 389, 391, 426, 524,
608
Lixo domiciliar: 334
Lodo: 54, 256, 260, 299, 306-
308, 334, 336, 388, 521

M

Macroagregados: 97, 99, 106
Macrofauna: 17, 78, 80, 141,
192, 206, 268
Macromoléculas: 56, 114, 174,
183, 187, 192, 210, 220, 247
Manejo biológico: 628
Manejo do solo: 106(fig), 326,
591, 607, 628
Manto: 203, 229, 548, 551, 641,
644, 650, 653, 654, 657
Marcos históricos: 2(tab)
Mastigonema: 64
Materiais lignocelulósicos: 217
Matéria orgânica: 1, 17, 19, 54, 68,
79, 85, 89, 94, 97(fig), 98, 102,
103, 106, 106(fig), 109, 110,
114, 135, 138, 152, 157, 160,
163, 170, 177, 180, 181, 192,
193, 200, 203, 204, 206, 214,
224-226, 230, 245, 247, 249,
251-253, 255, 256, 257(fig),
258, 259(fig), 260, 275, 279,
301, 306, 319, 323, 324, 326,
329, 329(fig), 335, 337-339,
341, 354, 361, 363, 367, 369,
374-376, 380-382, 385, 386,
401-403, 407, 410, 432, 434,
442, 475, 513, 520, 527, 541,
552, 626, 635, 650, 652
Mecanismos de reconhecimento:
543, 646
Meia vida: 184, 229, 230(fig),
266, 267, 269, 291, 294, 361
Meio de cultura: 20, 62, 99, 142,

144, 145, 292, 452, 475, 481,
514, 515, 517, 525, 544, 563
Melaninas: 219, 396
Membrana(s): 30, 32, 34, 36, 39,
51, 64, 93, 115, 120, 129, 141,
155, 185, 187, 215, 234, 235,
350, 358, 394, 410, 419, 439,
482(fig), 551, 559, 565, 572,
573, 576, 585, 608, 609(fig),
644
Mendosicutes: 30
Mercúrio: 138
Mesofauna: 142, 204, 429
Mesófilos: 128, 255
Mesorhizobium: 458, 493, 498,
500, 504, 514, 521
Mesossomo: 30
Metabolismo: 30, 39, 51, 53, 83,
85, 89, 110, 115, 121, 123,
131, 144, 163, 165, 167, 168,
171-175, 177-180, 182, 183,
235, 284, 285, 292, 295, 298,
301, 331, 361, 368, 383, 391,
415, 416, 426, 432, 439, 453,
510, 561, 562, 586, 614, 641
Metabólitos vegetais: 235
Metais pesados: 60, 107, 135,
144, 158, 191, 191(fig), 193,
196, 197, 197(fig), 234, 260,
301, 313, 333, 335, 337, 338,
349, 398, 403, 521, 524, 552,
558, 589, 605, 608, 609, 615,
617, 652, 653, 655, 656(fig)
Metalotioneínas: 395, 656
Metamonoglobinemia: 355
Metano: 25, 44, 45, 53, 54, 121,
132, 332, 541, 542(fig)
Metanogênese: 47, 176, 177
Metanogênicos: 157, 177,
177(fig), 179, 180, 334, 459
Metazoa: 78
Metil-halogenados: 178, 264
Metilação de Hg: 394
Metilitrofia: 44, 47
Micélio: 58(fig), 59, 68, 69(fig), 71,
73(fig), 74, 133, 141, 392, 492,
548, 551, 552(fig), 557, 558,
560-562, 566, 576, 577(fig),

- 579, 608, 609, 616, 641, 644,
645(fig), 650, 654, 658-660
- Micorrização controlada: 658
- Micorrizas arbutóides: 550, 551
- Micorrizas das orquídeas: 552
- Micorrizas ericóides: 551, 552
- Micorrizosfera: 103, 577, 608,
647, 656
- Micotrófica/Micotrofismo: 553,
595, 602, 605, 607, 615, 620,
628, 648 / 564, 603, 610
- Microambiente: 84, 115, 122,
124(fig), 135, 180, 187
- Microbiologia funcional: 233
- Microbiostase: 446
- Microbiota do solo: 11, 12, 102,
169, 172, 182(fig), 186, 197,
247, 253, 259, 259(fig), 281,
285, 294, 344, 379
- Microbiota rizosférica: 102, 412
- Microbiota heterotrófica: 89, 391
- Microbióvoros: 19
- Microestrutura: 85, 103
- Microfauna: 79, 80, 90, 181, 191,
196, 204
- Microflora: 17
- Micro-*habitat*: 84
- Microorganização: 88(fig)
- Microscópios: 141
- Microsimbionte: 548
- Microssítio: 84, 115, 121, 130,
181, 422
- Milho: 220, 221, 225, 226, 239,
240(fig), 246, 257, 258, 265,
281, 292, 335, 367, 370, 371,
374, 407, 411, 412, 440, 469,
471(fig), 473, 475, 538, 541,
571, 572, 584, 586, 587(fig),
593, 595, 597, 610-613, 615,
617, 625, 628, 631
- Mimosoideae: 487, 489, 491(fig),
514
- Mineralização/Mineralizadores:
80, 114, 130, 163, 175, 178-
180, 183, 199, 266, 278, 281-
283, 286, 298, 304, 370(fig),
371, 373-376, 383, 385, 386,
389, 398(fig), 401-403, 432,
434, 520, 608, 611, 650 /
179(tab), 204, 208, 209(fig),
247, 247(fig), 248, 249,
250(fig), 250-254, 259, 313,
320, 337, 339, 340, 344, 346,
347(fig), 348, 349, 367, 369,
380, 402, 608, 611
- Minhocas: 17, 78-80, 204, 246
- Mitocôndrias: 30, 644
- Mixotrofia: 60
- Modelo cinético: 184, 185(fig),
189, 226
- Moléculas anfipáticas: 30
- Moléculas-assinatura: 155
- Moléculas recalcitrantes: 109,
233
- Monocultura: 196, 197, 222, 252,
277, 348, 399, 442, 526, 590,
593, 594, 614, 630
- Monofilético: 554, 555
- Monooxigenases: 178, 293
- Mucilagem/Mucigel: 410-412,
421, 422, 616, 653 / 410, 411,
421
- Mudanças climáticas globais:
183
- Mudas: 259, 485, 548, 584, 597,
599, 603, 605(fig), 612, 615,
621-623, 623(fig), 624-627,
633, 647(fig), 648, 650, 652,
654, 657-660
- Multinucleado: 558
- Mureína: 30
- Mutantes: 39, 570, 571
- Mutualismo/Mutualistas: 130,
132, 134, 543, 544 / 165, 274,
280, 426, 500, 544, 646
- Myconate: 631
- Myxobactérias: 108, 133
- Myxomicetos: 63, 68
- N**
- N: 89, 114, 131, 135, 138, 144,
145, 167, 171, 180, 181,
182(fig), 190, 192, 196, 198,
200, 203, 212, 217, 219, 220,
221, 225-227, 230, 234, 235,
237, 241, 242, 248-250, 252-
256, 258, 278, 279, 293, 301,
306, 307, 313, 315, 318, 320,
323, 326, 330, 335, 337-341,
344, 346, 347(fig), 348,
348(fig), 349-352, 354-359,
361, 363(fig), 363, 364(fig),
364, 366(tab), 366-369, 373,
374, 381, 383, 385, 415,
418(fig), 418, 449, 451, 455,
469, 473, 475, 477, 481, 483,
485, 504, 510, 513, 520, 521,
524, 527, 537-539, 539(fig),
551, 552, 572, 586, 605, 608,
612-614, 617, 626, 650
- N-biomassa: 198, 253
- Necessidade de inoculação: 527
- Necromassa: 163, 203, 314
- Nematicidas: 290, 524, 596
- Nematóides: 19, 20, 78, 79, 133,
141, 142, 152, 219, 246, 303,
344, 429, 614, 626, 656
- Neutrófilos: 117
- Nicho ecológico: 56, 83
- Nitrificação: 11, 47, 115, 157,
241, 275, 340(fig), 343, 344,
350, 350(fig), 351, 352,
353(fig), 354-357, 358(fig),
361, 362, 363(fig), 363, 364,
368, 385, 394, 432
- Nitrificação desnitrificante:
358(fig), 362, 363(fig), 363
- Nitrificação fotoautotrófica:
353(fig)
- Nitrificação heterotrófica: 350,
352
- Nitrogenase: 120, 145, 159, 418,
449-451, 452(fig), 453, 454,
454(fig), 455, 476, 482(fig),
483, 510, 520, 524, 525, 541
- Nitrosaminas: 356
- Nodulação: 141, 242, 259, 426,
455, 458, 479, 485, 487, 489,
500, 502, 510, 513, 514,
515(fig), 518, 520, 524-528,
538, 570, 608, 612
- Nodulinas: 510, 570
- Nódulos actinorrízicos: 483
- Nódulos caulinares: 479

726 Índice Remissivo

Nódulos de crescimento determinado: 504
 Nódulos de crescimento indeterminado: 504
 Nódulos efetivos: 455
 Núcleo: 11, 30, 74, 76, 233, 286, 289, 293, 558, 572
 Número mais provável: 578, 580
 Nutrição mineral/vegetal: 1, 11, 14, 418 / 11, 247, 411, 434
 Nutrientes minerais: 77, 114, 116, 247, 249, 432, 551

O

Ocorrência de espécies: 491(fig), 581(fig)
 Oligômeros: 186, 210, 299, 572
 Oligotróficos: 20, 108, 181
 Oomicetos: 64, 553
 Oomycota: 63, 64, 68
 Onívoros: 19
 Oportunista: 59, 122
 Organelas: 30, 33(fig), 56, 614, 644
 Organismos macroscópicos: 22, 83, 157, 167
 Organoclorado: 267, 270, 272, 277, 289, 296, 298
 Organotróficos: 19, 39, 169, 171, 359
 Osmolalidade: 419
 Oxirredução dos minerais: 401
 Oxidação da glicose: 175(fig)
 Oxidação fosforilativa: 175, 175(fig), 357
 Ovos de helmintos: 336

P

P orgânico: 138, 235, 369, 370, 373-376, 380, 611
 Palhas de cereais: 172, 237
 Pandêmicos: 558, 593
 Pântanos: 54, 60, 178, 227, 331
 Papel agroecológico: 621
 Papilionoideae: 487, 489, 491(fig), 507, 514
Paraglomus: 555, 589, 617
 Parasíticas: 20, 165, 500, 594

Parasitismo: 80, 130, 133, 590
Parasponia: 455, 465, 501, 541
 Parede celular: 30, 33(fig), 34(fig), 34, 35(fig), 37(fig), 63, 68, 74, 77, 81(fig), 108, 114, 187, 216, 219, 220, 238, 385, 442, 483, 565, 570, 572-575, 644, 655
 Pastagens: 265, 324, 354, 373, 473, 622
 Patógenos: 12, 18, 56, 59, 62, 64, 76, 106, 122, 130, 241, 242, 245, 256, 273, 274, 280, 336, 337, 387, 422, 429, 432, 439-442, 443(fig), 445(fig), 469, 499, 451, 544, 573, 575, 608, 614, 625, 630, 646, 648, 656, 657, 660
 Patógenos radiculares: 242, 614, 656
 Pectina: 95, 215(fig), 216
 Pectinases: 216, 565
 Película: 554
 Peptideoglicano: 30, 34(fig), 34, 62
 Perfis de proteína: 150(fig)
 Periplasma: 34, 187, 358, 419
 Permeabilidade da membrana: 585
 Permeases: 30
 Peroxidase: 39, 216, 217, 285, 400, 571, 573, 575
 Peroxissomas: 30
 Persistência: 208, 214, 219, 246, 265, 267(fig), 267-270, 270(fig), 271, 271(fig), 272, 277, 294, 301, 304
 Peso molecular: 34, 150(fig), 156, 214-217, 247, 395, 396, 409, 410, 441, 500, 656
 Pesticidas: 14, 109, 242, 263, 264, 264(fig), 265, 266(fig), 266-268, 271, 273-275, 277-280, 285, 287, 288, 289(fig), 290, 292, 294, 296, 297, 299, 300, 303, 320, 335, 354, 388, 595, 608, 615, 626
 Pesticidas agrícolas: 263, 297, 299

PHB (Poly- β-hidroxitubirato):108
 PIB verde: 313
 Picloram: 217
 Pilli: 91, 93
Pisolithus: 219, 550, 635, 638-640, 645(fig), 646, 650, 652(fig), 654, 656, 658, 659
 Plantas ectomicorrizas: 546, 548, 550, 557-579, 632, 633, 635, 638-641, 644, 645(fig), 646-648, 650, 653, 656-658
 Plantas transgênicas: 299, 378, 381, 574
 Plantio direto: 135, 195, 198, 220, 223, 225, 226, 243, 244, 258, 280, 294, 325, 326, 328(fig), 340, 344, 346, 347, 520, 525, 527, 594
 Plasmídeo: 12, 131, 286, 287, 293, 300, 309, 456, 458, 500, 501, 525
 Plasticidade fisiológica: 558
 Plastídeos: 68
 Pleomorfismo: 422, 423
 Podzólicos: 223
 Polifilético: 24
 Polímeros orgânicos: 102, 177, 178
 Polimorfismo: 156, 422
 Polipeptídeos induzidos: 645
 Polissacarídeos: 34, 60, 98, 99, 102, 103, 104(fig), 114, 156, 157, 210, 217, 244, 260, 410, 411, 419, 453, 504, 619, 644, 655
 Polissacarídeos extracelulares: 99, 102, 103, 419, 453, 493, 504, 524, 619
 Poluentes: 185, 235, 272, 298, 299, 306, 329, 333, 356, 388, 399, 403, 578(fig), 582, 608, 615
 Poluição: 78, 109, 121, 234, 259, 263, 303, 320, 386, 388
 Populações degradadoras: 284(fig), 289, 294, 300
 Potencial de mitigação do aquecimento global: 326

- Potencial de oxirredução: 127, 128, 173, 179, 297
 Potencial hídrico: 122, 418
 Potencial redox: 95, 115, 127, 179, 186, 385
 Práticas agrícolas/culturais: 226, 324, 326, 591 / 103, 368
 Pragas e doenças: 17, 130, 254, 264
 Predação: 19, 80, 133, 275, 429, 590
 Prêmio Nobel: 11, 56, 245
 Procariotos: 12, 22, 24(fig), 24, 25, 25(fig), 30, 36, 39, 45, 47, 51, 56, 59, 148, 155, 159, 287, 350, 423, 449, 456, 459, 499
 Processo sintrófico: 331(fig)
 Processos bioquímicos: 14, 163, 166(fig), 167(fig), 173, 176, 180, 213, 217, 223, 235, 273, 275, 279, 281, 307, 317(fig), 365, 559
 Processos oxidativos: 285, 344
 Produção agrícola: 11, 256, 260, 264, 317, 326, 329, 356, 364, 369, 611, 621
 Produtividade biológica: 159
 Produtividade primária: 223, 318, 350
 Produtos voláteis: 241
 Prokarya: 25
 Promiscuidade: 484, 514
 Propágulos: 169, 557, 559, 562, 564, 565, 570, 576, 578, 580, 582, 584, 586, 590, 594, 596, 597, 617, 620, 621, 625, 628, 641, 658
 Propriedades celulares: 36, 142
 Proteases: 95, 185, 189, 559, 575
 Proteases: 95, 185, 189, 559, 575
 Proteínas: 23, 24, 30, 34, 95, 114, 115, 120, 129, 148, 156, 163, 168, 176, 183, 186, 204, 210, 219, 220, 235, 245, 246, 340, 341, 375, 378, 383, 395, 400, 426, 458, 459, 510, 559, 560, 570, 573, 575, 608, 616, 617, 645, 645(fig), 646, 647, 655
 Proteínas inseticidas: 246
 Proteobacteria: 54, 60, 62, 459
 Protocooperação: 131
 Protocista: 20, 25, 63, 65(fig), 66 (fig), 67(fig), 68, 152
 Protozoa: 20, 25, 56, 63, 65(fig), 68
 Protozoário: 20, 56, 63, 65(fig), 68, 80, 122, 133, 134(fig), 187, 192, 204, 288, 336, 373, 429
- Q**
*q*C02 (ver quociente metabólico): 158, 307
 Qualidade ambiental: 13, 14, 159, 178, 446, 619
 Qualidade do solo: 98, 159, 160, 163, 176, 183, 185, 189, 190, 193, 195, 205(fig), 232, 258, 260, 273, 277, 280, 348, 403
 Quimioautotróficos: 19, 359
 Quimiodesnitrificação: 357
 Quimiolitotrofia: 47, 493
 Quimiolitotróficos: 18, 39, 47, 54, 62, 114, 320, 352
 Quimiorganotróficos: 18-20, 76, 171, 351, 353
 Quimiotaxia: 95, 429
 Quimiotróficos: 18, 170, 171
 Quitina: 56, 68, 155, 210, 219, 340, 344, 572, 574, 654
 Quitinases: 574, 575, 646
 Quociente metabólico: (ver *q*C02) 158, 307
Quorum sensing: (ver senso de quorum) 134, 427
- R**
 Radicais fenólicos: 217
 Radionuclídeos: 395, 396
 Reabilitação de solos: 190
 Reação em cadeia da polimerase: 129, 148, 149(fig)
 Reações enzimáticas: 184, 187, 284, 287, 392
 Recalcitrância/Recalcitrantes: 204, 216, 229, 270, 271, 289, 306 / 109, 213, 219, 227, 233, 235, 269, 281, 289, 309, 617
 Reciclagem: 14, 176, 181, 184, 200, 213, 217, 220, 224, 230, 231, 232, 241, 250, 251, 255, 259, 316, 319, 323, 328, 332, 334, 338, 369, 373, 386, 401, 403, 650
 Reconhecimento: 13, 453, 500, 502, 504, 543, 544, 565, 572, 574, 641, 644, 646
 Recuperação do impacto: 277(fig)
 Rede de alimentação: 206, 206(fig)
 Rede de Hartig: 141, 548, 641, 644, 646, 653, 654
 Redução assimilatória: 47
 Redução dissimilatória: 340(fig), 357, 386, 402
 Redundância funcional: 45, 84
 Redutase: 177, 287, 288(fig), 351, 352, 358, 360(fig), 394, 400, 520, 573
 Redutoras de sulfato: 542(fig)
 Reguladores do crescimento vegetal: 235
 Reinoculação: 527
 Reino(s): 17, 20, 25, 63, 64, 68, 78, 152, 545, 621
 Relação água-planta: 613
 Relação C:N: 114, 217, 220, 237, 249, 253, 254, 255, 306, 307, 339, 344, 348, 354, 383, 527, 552
 Relações filogenéticas: 22, 23, 557
 RELARE: 534, 538
 Reprodução: 56, 60, 63, 64, 69, 71, 73(fig), 74, 76, 80, 446, 614
 Resíduo petroquímico: 307
 Resíduos de gramíneas: 221, 240(fig), 254, 258
 Resíduos de herbicidas: 280, 617
 Resiliência: 45, 459, 633
 Respiração edáfica: 183

728 Índice Remissivo

- Responsividade: 597, 602
 Resposta hipersensível: 574
 Resistentes a antibióticos: 518
 Restos culturais: 103, 106, 163, 192, 196, 199, 203, 237, 240(fig), 244, 244(fig), 254, 328
 Retenção de C no solo: 225
 Retículo endoplasmático: 30, 64, 644
 Revegetação: 106, 481, 525, 589, 613, 615, 658
 Revolução verde: 11, 263
 Revolvimento do solo: 14, 220, 223, 225, 328, 344
Rhizobium / Rizóbio: 89, 93, 123, 287, 288, 419, 457(fig), 458, 485, 493, 498-500, 504, 514, 516(fig), 521 / 12, 13, 99, 135, 141, 221, 242, 273, 279, 280, 376, 379, 418, 440, 441, 455, 458, 471, 481, 485, 489, 493, 498, 501, 502(fig), 504, 505(fig), 507(fig), 514, 515, 521, 526, 527, 534, 535, 537, 570, 572, 591, 612
 Ribossomos: 23, 24(fig), 115
 Riqueza de espécies: 580, 589, 593, 641
 Riscos ambientais: 303, 335, 380, 403
 Riscos de contaminação: 333, 336
 Rizodeposição: 103, 165, 192, 203, 251, 252, 321, 578(fig)
 Rizóides: 71
 Rizopiano: 408
 Rizosfera: 11, 83, 102, 103, 110, 130, 165, 189, 241, 252, 294, 310, 332, 356, 363, 368, 371, 372(fig), 374, 376, 378, 379, 401, 407, 408, 408(fig), 409-411, 411(fig), 412, 413, 417, 418(fig), 418, 419, 421-424, 425(fig), 426, 428, 429, 432, 434, 439, 440, 442, 446, 459, 465, 469, 518, 541, 542(fig), 544, 565, 566, 572, 577, 584, 585, 593, 594, 611, 612, 616
 RNA ribossômico: 23, 24
 Rochas fosfatadas: 380, 518
 Rochas fosfáticas: 369, 377
 Roundup: 294, 524
 Rosídeas: 465, 466(fig)
 Rota degradativa: 286
 Rotação de culturas: 106, 189, 196, 222, 223, 225, 328, 442, 594, 596, 621, 630
 Rotas de contaminação: 292
 Rotas metabólicas: 166(fig), 168, 169(fig), 344
- S**
 Sáculo esporífero: 556
 Salinidade: 51, 107, 477, 524, 525, 608
Salmonella: 336
 Saprófagos: 19, 79
 Sarna-da-batatinha: 117
 Scepter: 617
Sclerocystis: 554, 555, 588
Scleroderma: 635, 638, 634, 658, 660
Scutellospora: 99, 554-557, 580, 581(fig), 588, 599, 591, 593, 617
 Secreções: 103, 409
 Seleção de estirpes eficientes: 527
 Senso de quorum (ver também *Quorum sensing*): 134
 Seqüestro de C: 226, 324
 Serrapilheira: 79, 80, 110, 141, 203, 223, 520
 Serviços da natureza: 313
 Sideróforos: 244, 396, 403, 439-441, 446
 Simbiose: 19, 53, 59, 62, 74, 78, 102, 130, 132, 134, 221, 314, 381, 396, 426, 446, 454, 455, 458, 459, 465, 471, 476, 477, 479, 481, 483, 484, 487, 489-501, 504, 507, 510, 514, 518, 524, 527, 538, 542(fig), 543, 545, 551-554, 557, 564, 565(fig), 566, 571, 575, 576, 577(fig), 577, 580, 582, 584, 594, 596, 597, 606, 608, 614, 615, 620, 621, 624, 630, 632, 633, 635, 641, 644, 646, 647, 650, 654
 Simbiotróficos: 19, 163, 165, 216, 544
 Sinais moleculares: 235, 426, 554, 570-572, 585
Sinorhizobium: 458, 493, 498, 500, 504, 514, 521
 Síntese de proteína: 168(fig)
 Sintrofia: 132, 331
 Sistema de produção: 14, 326
 Sistema radicular: 328, 407, 416, 417, 441(fig), 520, 525, 599, 608, 614, 656
 Sistemas agrícolas: 254, 260, 449, 521, 554, 596
 Solo rizosférico: 85, 105(fig), 419, 434, 440
 Solos agrícolas: 103, 106, 178, 237, 256, 288, 289(fig), 326, 331, 336, 356, 361, 369, 380, 383, 617, 627, 628, 631, 657
 Solos anóxicos: 176, 180, 296, 301, 331
 Solos condutivos: 442, 444(fig)
 Solos inundados: 120, 121, 178, 368, 386
 Solos supressivos: 444(fig)
 Solução do solo: 115, 122, 126, 165, 186, 236(fig), 238, 243, 294, 314, 316, 354, 368, 370, 371, 380, 402, 419, 586, 600(fig), 602, 608, 610, 650
 Solubilização: 313, 370(fig), 371, 376, 377, 379, 381, 391, 392, 402, 434, 441, 518, 608, 611, 650
 Sondas genéticas: 141, 142
Streptomyces: 11, 12, 56, 59, 117, 119(fig), 215, 217, 219, 245, 273, 294, 299, 304, 387, 394, 396, 400, 423, 442, 443
 Substâncias alelopáticas: 426
 Substâncias húmicas: 98, 187,

217, 219, 228(fig), 230, 233, 234, 234(fig), 235, 246, 282, 344, 368, 374, 380
 Substâncias promotoras de crescimento/Substâncias reguladoras do crescimento: 235, 237, 244, 432, 440, 441, 614, 647
 Substâncias tóxicas: 281, 282, 329, 615
 Substratos e fontes de energia: 109
 Subunidade ribossomal: 25(fig)
 Sucessão trófica: 167, 180, 193
Suillus: 638, 640
 Superoxidismutase: 39
 Supressividade do solo: 442
 Suscetibilidade à colonização: 583(fig)
 Sustentabilidade: 14, 102, 160, 200, 235, 256, 313, 317, 317(fig), 338, 348, 368, 594-596, 612, 619, 630, 648

T

Taqpolimerase: 62, 129, 148
 Taxas de humificação: 226
 Tecnologia do DNA recombinante: 12, 246, 303
 Técnicas moleculares: 12, 22, 424, 558
 Temperatura: 51, 54, 62, 95, 107, 120, 122, 125(fig), 127-130, 136, 138, 144, 156, 159, 180, 183, 184, 197, 211, 215-217, 220, 221, 229, 232, 255, 256, 300, 308, 330, 332, 344, 348, 352, 357, 361, 366, 376, 385, 410, 413, 422, 423(fig), 432, 449, 453, 477, 500, 521, 525, 527, 538, 559, 562, 578(fig), 591, 592(fig), 633, 653, 657
 Tempo de reciclagem: 181, 224, 230-232
 Tempo médio de residência: 224, 339
 Tenericutes: 30
 Termófilos: 54, 128, 255

Terrço: 658, 660
 TGGE: 156
Thelephora: 550, 635, 638, 660
 Thermotogales: 62
Thermus aquaticus: 62, 129
 Tioglicosidase: 241
 Tipos de metabolismo: 39
 Toxafeno: 272
 Toxicidade de alumínio: 514
 Toxinas: 60, 115, 133, 238, 239, 244-247, 265, 299, 432, 544
 Transferência de nutrientes: 539, 612, 651(fig)
 Transformação genética: 299, 309
 Transformações bioquímicas: 165, 184, 189, 192, 195, 298, 313, 330, 339, 402
 Transformadores de serrapilheira: 79
 Transgênicos: 12, 247, 265, 295, 309
 Triazinas: 270
 Trifluralina: 273, 274(fig), 279, 280, 294
 Trigo: 196, 199, 200, 211, 221, 239, 240(fig), 258, 265, 273, 274(fig), 374, 407, 411, 422, 423(fig), 424, 439, 442, 469, 473, 475, 618(fig)
 Trufas: 635, 652, 660
 Tubo germinativo: 116, 560, 561(fig), 561, 571, 589

U

Urease: 95, 159, 184, 187, 190, 191(fig), 275, 307, 349, 356, 394
 Uréia: 95, 184, 241, 270, 340, 349, 356, 367, 537, 538
 Ureídeos: 510
 Uso de fertilizantes: 326, 368, 692

V

Variações inter e intra-específicas: 589
 Velocidade de decomposição: 213, 221

Vesículas: 30, 56, 74, 454, 482(fig), 482, 483, 548, 549(fig), 553, 555, 557, 566, 576, 578, 579
 Vesículas de Golgi: 30
 Vesículas tilacóides: 30
 Vitaminas: 60, 110, 235, 381, 383, 432, 441, 473, 491, 613
 Vírus: 59, 80, 81(fig), 85, 336, 614
 Viveiro: 489, 622, 657-660

X

Xenobióticos: 109, 130, 135, 179, 233, 234, 263, 264, 267(fig), 268-270, 270(fig), 271, 271(fig), 272-275, 275(fig), 277, 280-285, 287-289, 297, 297(fig), 298, 299, 300(fig), 303, 304, 306, 309, 354

Z

Zigóforos: 71
 Zimógenos: 20, 181
 Zona de infecção micorrízica: 644
 Zygomycota: 71, 635

