

B. CARLOS BORGES TANCK*

A aptidão do solo para suportar o crescimento das plantas depende do meio ambiente. Os fatores físicos, químicos e biológicos são indispensáveis para a nutrição vegetal e estão intimamente associados com a matéria orgânica edáfica, através da atividade dos microrganismos no solo. Os mesmos constituem um vasto conjunto sistemático de bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários e algas. Em geral, o nível de microrganismos no solo está positivamente correlacionado com o nível de matéria orgânica, a qual está associada principalmente com a parte superior (30-40 cm) do solo. Em conjunto, estes organismos podem ser capazes de substituir fertilizantes minerais e agrotóxicos, diminuindo despesas, reduzindo a poluição e causalidades ambientais. Grande número de interações podem ocorrer entre espécies, ou seja, comportamento independente, associação com plantas, associação mútua e supressão de espécies. A possível supressão de grupos microbianos tem sido testada com muitos herbicidas, inseticidas, fungicidas e uma variedade de diferentes populações tem sido avaliada em comparações de solos tratados e não tratados.

1 INTRODUÇÃO

Com a utilização em grande escala dos agrotóxicos para aumentar a produtividade agrícola, tem-se intensificado o estudo dos efeitos tóxicos destes nos organismos primários e secundários do solo.

*Aluno de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Paraná e Pesquisador do CEPPA.

A microbiologia do solo é essencial para avaliar as formas dinâmicas da população do mesmo e seus efeitos nas propriedades físicas, químicas e biológicas. As regiões agrícolas dependem de componentes específicos para um bom desenvolvimento vegetativo, entre os quais pode-se citar cinco principais: material inorgânico, água, ar, matéria orgânica e organismos vivos (1). A quantidade destes últimos varia muito conforme o manejo do solo, as condições naturais que envolvem este solo e as interações entre estes e o solo (5). O meio-ambiente do solo contém vasto conjunto de organismos que participam de muitos sistemas dinâmicos das interações biológicas na natureza, nestas regiões ocorrem muitas reações bioquímicas envolvidas na destruição do material orgânico, nos desgastes das rochas e na nutrição de plantas (2). Nos últimos anos, têm sido significativa a contribuição da microbiologia do solo, ou seja, no domínio da ciência aplicada, os estudos mostram o papel crucial da microflora do solo na modificação ou destruição de poluentes do meio ambiente; a descoberta de que as populações subterrâneas podem formar produtos tóxicos; a utilização em larga escala de inoculantes para leguminosas e as investigações da influência da microflora na degradação e persistência dos agrotóxicos (5). No momento tem sido considerável a ênfase dada às interações entre saprófitas e patógenos do solo para as doenças de plantas. Os microrganismos do solo pertencem a grupos dos mais diversos reinos. Entre estes, os mais numerosos são os fungos, as bactérias e os actinomicetos (1).

O húmus do solo é derivado de resíduos de plantas, animais e microrganismos, bem como, de produtos das sínteses microbianas que ocorrem durante as fases de formação e mineralização da matéria orgânica pelos microrganismos, que asseguram constante supência de elementos essenciais para o bom desenvolvimento das plantas. Em geral, o nível dos microrganismos no solo é positivamente correlatado com o nível da matéria orgânica, que está principalmente associada com a faixa de 30 - 40 cm do solo (2). Os mesmos organismos que provocam a decomposição e transformação do material orgânico dentro do húmus, vivem em ciclo contínuo de crescimento, multiplicação, morte e decomposi-

ção (2). Seus resíduos mortais são utilizados como nutrientes para a vida dos organismos (1). A degradação aumenta com a morte dos organismos através da síntese enzimática formando complexos orgânicos, o que explica parcialmente o aumento da fertilidade do solo, que usualmente resulta na melhoria de suas propriedades físicas, químicas e biológicas (2).

A microflora rizosférica, que depende do ambiente da raiz, é típica para todas as plantas, sendo mais afetada pelas plantas do que pelo solo (1). A população da rizosfera floresce com os exudatos da raiz, excreções e decomposição do material orgânico (2). Efeitos não favoráveis incluem o aumento da desnitrificação, a competição por oxigênio e a oxidação do ferro e manganêsio, base para patógenos específicos (2). Os efeitos favoráveis incluem antagonismo para patógenos, solubilização do fósforo, fixação simbiótica do nitrogênio, produção de agentes quelantes e fatores de crescimento vegetal (2). Na estrutura da agricultura e das ciências ambientais, a microflora é significativa porque traz benefícios, influenciando a habilidade de enriquecer o conteúdo orgânico do solo (2).

A composição da microflora de alguns habitats é governada pelo equilíbrio biológico criado pelas associações e interações de todos os indivíduos apoiados na comunidade (1). O teor total de todas as interações individuais determina a comunidade clímax e a microflora nativa tipifica um habitat conhecido (2). Um número plausível de interações podem ocorrer entre duas espécies: neutralismo (no qual dois microrganismos comportam-se totalmente independentes); simbiose (os dois simbiontes contendo um com o outro e ambos sendo beneficiados pelo relacionamento); protocooperação (uma associação de benefícios mútuos para as duas espécies, mas sem a cooperação do ser vivo obrigatório para a existência delas ou para sua performance); comensalismo (na qual somente uma espécie beneficia-se embora a outra não seja afetada); competição (uma condição na qual existe a supressão de um organismo, com as duas espécies lutando para limitar as quantidades de nutrientes e oxigênio ou outras necessidades comuns); amensalismo (na qual uma espécie é supri-

mida embora não seja afetada tipicamente com a produção de toxina); parasitismo ou predação (ataque direto de um organismo sobre outro) (1).

As raízes das plantas suportam grande população microbiana sobre a superfície e em seu micro ambiente no solo (2). Esta população da rizosfera difere da população microbiana do solo em composição, nível e atividade (2). Esta parte da microflora do solo está sob a influência do ambiente da raiz, onde esta excreta vasta formação de pequenas moléculas orgânicas tais como: açúcares, aminas e ácidos carboxílicos (1). Dentre as principais estruturas simbióticas que ocorrem na rizosfera, destaca-se o Rizobium (bactéria/planta) e a Micoriza (fungo/planta), associações que auxiliam no melhor aproveitamento de nutrientes essenciais para as plantas (2). A população da rizosfera pode melhorar o crescimento das plantas, como por exemplo, pela produção de hormônios vegetais, atuando como amortecedor contra os patógenos vegetais ou improvisando a absorção dos principais microelementos para a produção de quelatos (1). Alguns processos de degradação no solo dependem principalmente do crescimento microbiano (2).

2 MICROORGANISMOS DO SOLO

2.1 BACTÉRIAS

Na maioria dos solos, as bactérias são o grupo mais proeminente devido a existência de muitas populações em pequena porção do solo (2). Constituem grupo muito heterogêneo de organismos que, pelo seu pequeno tamanho e carência de caracteres morfológicos impossibilitam sua identificação mediante observação direta no solo (1). São responsáveis pelas reações químicas e biológicas do solo, crescem rapidamente e decompõem grande variedade de substratos naturais (1). Entre as populações nativas há espécies bacterianas que se desenvolvem consideravelmente quando se agregam a nutrientes orgânicos facilmente degradáveis (2). Nas diferenças fisiológicas uma variedade de características nutricionais e metabólicas incluem a natureza da fonte de energia, os carboidratos que são utilizados para o crescimento

e a capacidade de utilizar o N_2 como fonte de nitrogênio (4). A capacidade de crescimento na ausência de O_2 é uma característica bioquímica importante que tem levado à distinção de três categorias: aeróbicas, as que requerem O_2 ; anaeróbicas, que crescem somente na ausência de O_2 ; e anaeróbicas facultativas, as quais se desenvolvem tanto na ausência como na presença de O_2 (2). A morfologia celular também serve para caracterizar as bactérias. Entre os principais tipos morfológicos estão os bacilos com forma de bastão, que são os mais numerosos; os cocos, de forma esférica; e os espirilos, não sendo estes últimos comuns no solo (3).

As bactérias raramente estão livres na fase líquida do solo, porque a maior parte delas se adere às partículas de argila e húmus, sendo este efeito conhecido como atração eletrostática das bactérias pelo solo (1). É provável que grande parte da microflora bacteriana se agregue em colônias que se desenvolvem em sítios microecológicos favoráveis, ou em distintas massas relacionadas com excreções mucosas (2). As bactérias realizam fixação simbiótica nas plantas, formando nódulos (rizóbios) que auxiliam a planta a fixar o nitrogênio pela raiz (2). A quantidade e os tipos de bactérias são determinados normalmente pelo tipo e manejo do solo, que regula as condições de proliferação, as quais são influenciadas diretamente pelo conteúdo de matéria orgânica (2).

As condições ambientais afetam a densidade e composição da microflora pedológica e os fatores abióticos podem alterar significativamente a comunidade e o seu potencial bioquímico (4, 5). As principais variações que influem na comunidade são: umidade, temperatura, matéria orgânica, aeração, acidez e alcalinidade, e nutrientes inorgânicos (1). Os agrotóxicos influem diretamente ou indiretamente sobre a comunidade bacteriana, através do impacto sobre a mineralização, nitrificação, desnitrificação, impacto sobre a mineralização, nitrificação, desnitrificação, nodulação e fixação do nitrogênio (4, 5). Muitos trabalhos mostram que existem aproximadamente 300 espécies registradas como formas típicas do solo. Pode-se distinguir entre estas os principais gêneros que ocorrem com mais frequência no solo, ou seja, Clostridium, Bacillus, Pseudomonas, Cellulomonas, Bacterium,

Sorangium, Chondromyces, Chondrococcus, Myxococcus, Rhizobium, Sarcina, Achromobacter, Hydrogenomonas, Podanqium, Thiobacillus, Synangium, Agrobacterium, Azotobacter, Azotomonas, Micrococcus, Microbacterium, Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrosomonas (1).

2.2 FUNGOS

Em muitos solos cultivados e com boa aeração, os fungos constituem grande parte do protoplasma microbiano total (1).

São os principais agentes de decomposição em ambientes ácidos (2). Representam parte significativa da biomassa devido ao grande diâmetro de seus filamentos e a extensa rede que formam (micélio). Estes estão intimamente relacionados com as partículas, unidos fisicamente aos agregados do solo e com frequência os penetram (1).

A abundância e a atividade fisiológica da flora fúngica em diferentes habitats varia consideravelmente e a comunidade e suas atividades bioquímicas sofrem variações apreciáveis de acordo com o tipo de solo e suas características físicas e químicas (2). Estas influências são determinadas pelo microambiente pedológico que os rodeia (2). Dentre estas pode-se citar: o estado da matéria orgânica, a concentração do íon hidrogênio, os fertilizantes orgânicos, os fertilizantes inorgânicos, o nível de umidade, a aeração, a temperatura, a posição no perfil, a estação do ano e a composição da vegetação (2).

A nutrição dos fungos é heterotrófica, sendo sua distribuição determinada pela disponibilidade de substratos carbonados oxidáveis (1). A estimulação de sua atividade inicial da matéria orgânica complementar é maior durante o período inicial da decomposição (2). Os fungos obtêm o carbono mediante a síntese celular a partir de moléculas orgânicas pré-formadas, tais como: açúcares, ácidos orgânicos, dissacarídeos, amido, pectina, celulose, ácidos graxos e da molécula de lignina que é particularmente resistente a degradação bacteriana (1). Com frequência obtém o nitrogênio da amônia ou de nitratos. Participam no balanço microbiológico do solo limitando o tamanho e a atividade da fauna de protozoários e nematóides (1). Os fungos auxiliam na

degradação de resíduos vegetais e animais (2). A relação entre os fungos com as plantas superiores é denominada micorriza (1). A influência das micorrizas sobre o consumo de nutrientes inorgânicos é bastante importante, pois assimilam o fósforo com grande facilidade, permitindo que a planta se desenvolva em solos deficientes em fósforo (1). Em muitas espécies de vegetais, o fungo micorrizico estimula o consumo de N₂, S, Zn e outros elementos essenciais, protegendo a raiz contra as infecções provocadas por grande variedade de agentes patogênicos originários do solo (2).

Na aplicação de agrotóxicos específicos como os fungicidas, os fungos sofrem alterações na longevidade e na incidência das suas características ambientais (5).

A maioria dos pesquisadores encontra dificuldade para classificar os fungos do solo. A observação direta do solo revela, quase sempre grande número de hifas obscuras, que se supõem pertencerem a muitas espécies deste grupo. Os principais gêneros estudados em muitos solos, estão distribuídos especialmente na camada rica em matéria orgânica (1). Entre os gêneros mais representativos no solo pode-se destacar: Penicillium, Fusarium, Mucor, Aspergillus, Achlya, Mortierella, Pythium, Saprolegnia, Monosporium, Chaetomium, Trichoderma, Humicola, Cladosporium e Chaetomium.

3 MICROORGANISMOS E AGROTÓXICOS

Agrotóxicos são produtos químicos destinados ao controle de populações de pragas (5). A relação entre os microrganismos do solo e os agrotóxicos pode ser vista por dois pontos específicos. De um lado, porque estes químicos são especificamente produzidos para inibir ou matar pragas, sendo provável que alguns possam ter efeitos deletérios sobre espécies que não sejam pragas, incluindo os micro-habitantes subterrâneos (8). Por outro lado, normalmente os agrotóxicos são orgânicos e por tanto seriam conceivelmente metabolizados causando modificação ou destruição de suas atividades (7). Assim, o interesse

tem sido enfocados sobre duas possibilidades: a) os agrotóxicos suprimirem as populações ou funções das comunidades; b) os microrganismos metabolizarem os químicos diminuindo sua atividade ou alterando seu período de persistência no solo (6).

4 EFEITO DOS AGROTÓXICOS NOS MICRORGANISMOS DO SOLO

As taxas de aplicação para o solo de certos agrotóxicos, como alguns fungicidas, são variavelmente altas, tanto que a microflora é exposta em níveis que afetariam seriamente as populações individuais (10). Muitos herbicidas apresentam taxas baixas de toxicidade, isto é, o potencial varia conforme o produto químico (5). Portanto, o impacto de baixas concentrações de um agrotóxico pode ser algumas vezes maior do que um segundo, presente em níveis mais altos no solo (7). Além disso, a duração da eficácia de um agrotóxico, isto é, a persistência, é governada pela estrutura química e pelas condições ambientais, tanto que a longevidade de alguma inibição vital é também considerada (8).

Desta forma, a influência dos químicos sobre a microcomunidade ou micropopulações constituintes do solo é determinada pelos agrotóxicos específicos, pela concentração e pela persistência (9).

5 MEIOS DE CULTURA PARA MICRORGANISMOS DO SOLO

Meios de cultura são substratos artificiais utilizados em laboratórios de microbiologia, que têm como característica principal fornecer nutrientes aos microrganismos para auxiliar seu desenvolvimento, processos bioquímicos e fisiológicos.

Descreve-se abaixo os procedimentos encontrados na literatura para preparação de meios de cultura específicos para fungos e bactérias do solo.

5.1 PROCEDIMENTOS

Coleta-se uma amostra do solo, dilui-se desta uma alíquota de 10 g em 90 ml de H₂O destilada e homogeneiza-se. Des-

ta solução coleta-se 1 ml e coloca-se em tubo de ensaio com 9 ml de água destilada. Após homogeneização completa da solução, esta é distribuída sobre uma placa com meio de cultura, conforme as Tabelas 1, 2, 3 e 4.

TABELA 1 - MEIO DE CULTURA DE MARTIN'S (1956) - ESPECÍFICO PARA BACTÉRIAS E FUNGOS DO SOLO

REAGENTES*	QUANTIDADE
KH ₂ PO ₄	1,0 (g)
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 (g)
Peptona	5,0 (g)
Dextrose	10,0 (g)
Rosa-Bengala	0,3 (g)
Ágar	15,0 (g)
H ₂ O destilada	1000,0 (ml)

*O reagente Rosa-Bengala deve ser dissolvido em 10 ml de H₂O destilada, antes de ser adicionado ao meio. Ao invés de usar H₂O destilada para preparar a solução, pode-se usar solução salina para evitar a destruição das células por plasmólise. Tal solução é preparada com os reagentes salinos da fórmula acima em 25% da concentração recomendada.

TABELA 2 - ÁGAR/SUCROSE NITRATO - CZAPEK'S (1957) - ESPECÍFICO PARA FUNGOS E BACTÉRIAS DO SOLO

REAGENTES	QUANTIDADE
K ₂ PO ₄	1,00 (g)
NaNO ₃	2,00 (g)
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50 (g)
KCl	0,50 (g)
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 (g)
Sucrose	30,00 (g)
Ágar	15,00 (g)
H ₂ O destilada	1000,00 (ml)

TABELA 3 - EXTRATO DE ÁGAR PARA SOLO - ESPECÍFICO PARA FUNGOS E BACTÉRIAS DO SOLO

REAGENTES	QUANTIDADE
K ₂ PO ₄	0,40 (g)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,50 (g)
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 (g)
MgCl ₂	0,10 (g)
FeCl ₃	0,01 (g)
CaCl ₂	0,10 (g)
Ágar	15,00 (g)
Peptona	1,00 (g)
Extr.de levedo	1,00 (g)
Solução de extrato de solo	250,00 (ml)
H ₂ O de torneira	750,00 (ml)

TABELA 4 - ÁGAR/PEPTONA - DEXTROSE - ESPECÍFICO PARA FUNGOS DO SOLO

REAGENTES	QUANTIDADE
Ágar	20,00 (g)
KH ₂ PO ₄	1,00 (g)
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,50 (g)
Peptona	5,00 (g)
Dextrose	10,00 (g)
H ₂ O destilada	1000,00 (ml)

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A necessidade de propor metodologia para avaliação da toxicidade de agrotóxicos em microrganismos do solo que atenda exigências da legislação em vigor, motivou o presente estudo

preliminar. Nesta primeira fase levantou-se os grupos microbianos que atuam significativamente no solo, identificando-se os meios de cultura que favorecem sua multiplicação. Numa segunda fase pretende-se utilizar esta caracterização como subsídio para identificar o grupo mais representativo, testando-se sua capacidade de reação frente a ação dos agrotóxicos.

Abstract

Fitness of soil to support plant growth depends on the environment. Physical, chemical and biological factors which are indispensable to plants nutrition and are intimately associated with the soil organic matter through the activity of soil microorganisms. The same microorganisms constitute a vast systematic array of bacteria, actinomycetes, fungi, protozoa and algae. In general, the level of microorganisms in the soil is positively correlated with the level of organic matter, which is mainly associated with the upper 30 - 40 cm of the soil. Together, these organisms may be able to replace mineral fertilizers and chemical pesticides, so lowering costs and reducing pollution and environmental hazards. A number of possible interactions may occur between species, which behave independently, association with plants, mutual association and suppression of species. The possible suppression of microbial groups has been tested with many herbicides, insecticides and fungicides, and the abundance of a variety of dissimilar populations has been evaluated in comparisons of treated and untreated soil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 ALEXANDER, M. Introduction to soil microbiology. New York: John Wiley, 1977. 389 p.
- 02 BURGESS, A. Biología del suelo. Barcelona: Omega, 1971. 596 p.
- 03 DEBONA, A.C., AUDUS, L.S. Studies on the effects of herbicides on soil nitrification. Weed Research, v. 10, p. 250-263, 1970.
- 04 DOMSCH, K.H., PAUL, W. Simulation and experimental analysis of the influence of herbicides on soil nitrification. Archiv für mikrobiologie, v. 97, p. 283-301, 1974.
- 05 JOHNNEN, B.G., DREW, E.A. Ecological effects of pesticides on soil microorganisms. Soil Science, v. 123, p. 319-324, 1977.
- 06 HANEKO, H., OHKAWA, H., MIYAMOTO, J. Degradation and movement of permethrin isomers in soil. Journal of Pesticides Science, v. 3, p. 43-51, 1978.

- 07 LIANG, T.T., LICHTENSTEIN, E.P. Synergism of insecticides by herbicides, effect of environmental factors. Science, v. 186, p. 1128-1130, 1974.
- 08 MATSUMURA, F., BENEZET, H.J. Microbial degradation of insecticides. In: HILL, I.R., WRIGHT, S.J.L. (ed). Pesticide microbiology. London : Academic Press, 1978. p. 627-628.
- 09 THOMPSON, F.R., CORKE, C.T. Persistence and effects of some chlorinated ancilines on nitrification in soil. Canadian Journal of Microbiology, v. 15, p. 791-796, 1969.
- 10 WAINWRIGHT, M., PUGH, G.J.F. The effect of three fungicides on nitrification and ammonification in soil. Soil Biology and Biochemistry, v. 9, p. 577-584, 1973.