

MICRORGANISMOS E PROCESSOS BIOLÓGICOS DO SOLO: PERSPECTIVA AMBIENTAL



JOSÉ OSWALDO SIQUEIRA
FÁTIMA MARIA DE S. MOREIRA
BRENO M. GRISI
MARIANGELA HUNGRIA
RICARDO S. ARAUJO



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA



EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ E FEIJÃO - CNPAF

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA - CNPSO

MICROORGANISMOS E PROCESSOS BIOLÓGICOS DO SOLO

PERSPECTIVA AMBIENTAL

José Oswaldo Siqueira

Fátima Maria de S. Moreira

Breno M. Grisi

Mariangela Hungria

Ricardo S. Araujo

EMBRAPA - SPI

Brasília, DF

1994

EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 45.

Capa:

À esquerda, no alto: Soja com inóculo em plantio direto.

(Cortesia do Dr. Eleno Torres, EMBRAPA-CNPSO)

No centro: Basidiocarpo.

À esquerda, abaixo: *Azolla* em sistema natural.

Comitê de Publicações

Pedro A. Arraes Pereira (CNPAF/Presidente)

Carlos Caio Machado (CNPSO/Presidente)

Editoração e Programação Visual

Antônio Carlos Naves (CNPAF/Consultoria)

Daniilo Estevão (CNPSO/Desenhos)

Hélvio B. Zemuner (CNPSO/Fotografias)

Lauro Pereira da Mota (CNPAF/Fotografias)

Lígia M. de O. Chueire (CNPSO/Revisão)

Moisés de Aquino (CNPSO/Revisão)

Reinaldo Paulino da Silva (CNPAF/Desenhos)

Sebastião José de Araújo (CNPAF/Capa-Desenhos)

Sinábio de Sena Ferreira (CNPAF/Digitação)

Normatização Bibliográfica

Ademir Benedito A. de Lima (CNPSO/Coordenação)

Ana Lúcia D. de Faria (CNPAF/Catálogo na Fonte)

Tiragem: 1.000 exemplares.

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Microorganismos e processos biológicos do solo : perspectiva ambiental / José Oswaldo Siqueira... [et al.] ; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão; Centro Nacional de Pesquisa de Soja. - Brasília : EMBRAPA - SPI, 1994.

142 p. - (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 45).

ISSN 0101-9716.

I. Microorganismo - Meio ambiente. 2. Solo - Microbiologia. I. Siqueira, José Oswaldo. II. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (Goiânia, GO). III. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). IV. Série.

CDD 631.46

© EMBRAPA - 1994

AUTORES

José Oswaldo Siqueira, Ph.D.

**Professor Titular, Escola Superior de Agricultura de Lavras
37200-000 Lavras, MG. Caixa Postal 37.**

Fátima Maria de S. Moreira, Ph.D.

**Professora Adjunta, Escola Superior de Agricultura de Lavras
37200-000 Lavras, MG. Caixa Postal 37.**

Breno M. Grisi, Ph.D.

**Professor, Universidade Federal da Paraíba
58051-970 João Pessoa, PB. Caixa Postal 5024.**

Mariangela Hungria, Ph.D.

**Pesquisadora, EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Soja
86001-970 Londrina, PR. Caixa Postal 1061.**

Ricardo S. Araujo, Ph.D.

**Pesquisador, EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão
74001-970 Goiânia, GO. Caixa Postal 179.**

SUMÁRIO

- 1. INTRODUÇÃO □ 7
- 2. ORGANISMOS E PROCESSOS BIOLÓGICOS DO SOLO □ 10
 - 2.1. Microbiomassa do solo □ 10
 - 2.2. O solo como hábitat □ 11
 - 2.3. Fatores ambientais e microrganismos □ 13
 - Mineralogia do solo □ 14
 - Umidade e aeração do solo □ 14
 - Temperatura □ 16
 - Acidez do solo e toxicidade do Al □ 17
 - Nutrição microbiana □ 19
 - Sucessão microbiana □ 21
 - Cobertura vegetal e uso da terra □ 23
 - Considerações gerais □ 26
 - 2.4. Atividade biológica e massa microbiana □ 28
 - Matéria orgânica e heterotrofia no solo □ 32
 - Microbiomassa □ 40
- 3. CICLAGEM DOS ELEMENTOS NO SOLO □ 43
 - 3.1. Carbono □ 45

3.2. Nitrogênio	□	47
3.3. Fósforo	□	50
3.4. Enxofre	□	52
3.5. Elementos metálicos	□	53
3.6. Considerações gerais	□	54
4. ASPECTOS BIOLÓGICOS DA DEGRADAÇÃO DO SOLO E POLUIÇÃO AMBIENTAL	□	57
4.1. Contaminação do solo e decomposição de xenobióticos	□	57
Aspectos gerais	□	57
Pesticidas	□	61
Metais pesados	□	66
4.2. Processos biológicos do solo e poluição ambiental	□	73
4.3. Degradação do solo	□	77
5. REABILITAÇÃO DE SOLOS DEGRADADOS	□	81
5.1. Aspectos gerais	□	81
5.2. Fixação biológica de N ₂ atmosférico	□	83
Considerações gerais	□	83
Microrganismos e sistemas fixadores de N ₂	□	85
5.3. Micorrizas	□	95
Aspectos gerais	□	95
Principais tipos e características	□	98
Simbiose e seus efeitos	□	101
Uso dos fungos micorrízicos	□	105
5.4. Agregação do solo	□	110
5.5. Biorremediação	□	112
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	□	116
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	□	117

1. INTRODUÇÃO

A EXPANSÃO populacional, com o conseqüente aumento na demanda de alimentos e matérias-primas, tem causado a exploração extrativista descontrolada dos recursos naturais do planeta com sérios prejuízos ambientais, atualmente bastante conhecidos por todos os segmentos da sociedade. O solo, a água e a biota (vida animal e vegetal de uma região) terrestre são recursos naturais essenciais para as várias formas de vida, e vêm sendo muito afetados pela exploração agrícola, atividade industrial e urbanização. A conscientização mundial da necessidade de conservação ambiental e preservação da biodiversidade tem forçado os cientistas, empresários e cidadãos a buscar sistemas de desenvolvimento sustentado e com menor impacto ambiental.

O efeito das atividades agrícolas na degradação dos recursos naturais, como aqueles causados pelo desmatamento, erosão do solo e uso de agroquímicos, é bastante evidente em várias regiões do mundo, devendo ser evitado ou, pelo menos, controlado e combatido. A produtividade agrícola, a qualidade dos produtos e a sustentabilidade do ecossistema, bem como o impacto ambiental causado pela agricultura, dependem do manejo dos componentes do sistema produtivo (Figura 1). Desse modo, qualquer sistema de produção oferece riscos para o meio ambiente, mas existem práticas que podem ser adotadas para minimizar seu impacto. Neste livro, não serão abordados aspectos ligados à pecuária, mas convém mencionar que o manejo inadequado dos animais também afeta a sustentabilidade do sistema.

Os organismos desempenham papel importante na gênese do hábitat onde vivem (Quadro 1). Em ecossistemas em clímax, a biota e o solo encontram-se em equilíbrio dinâmico, para garantir sua sustentabilidade e a biodiversidade; esse equilíbrio, porém, pode ser facilmente perturbado pelo homem ou mesmo por fenômenos naturais.

Em seu estado natural, o solo encontra-se coberto pela vegetação, que o protege da erosão e contribui para manter o equilíbrio entre os fatores de sua formação e aqueles que provocam sua degradação. O rompimento dessa relação provoca alterações físicas, químicas e biológicas, as quais, se não forem adequadamente monitoradas e controladas, levam à queda de produtividade e à degradação do ecossistema. Estimativas indicam que a taxa de formação do solo dificilmente ultrapassa 10 t/ha/ano, enquanto as perdas por erosão podem atingir de 120 a 150 t/ha/ano, dependendo do tipo de solo e uso da terra. As regiões tropicais, onde estão as áreas consideradas como as de maior potencial agrícola do mundo, devido à abundância de calor, luz e água, que são essenciais ao desenvolvimento das plantas, estão mais sujeitas à degradação dos solos, devido às precipitações elevadas, estrutura fraca do solo, baixo teor de matéria orgânica e manejo inadequado pelo homem. Dados compilados por Lal (1993) mostram 474,1.10⁶ ha pelo vento, 212,6.10⁶ e 49,9.10⁶ ha por degradações químicas e físicas, respectivamente; essas taxas são muito mais elevadas do que em regiões temperadas.

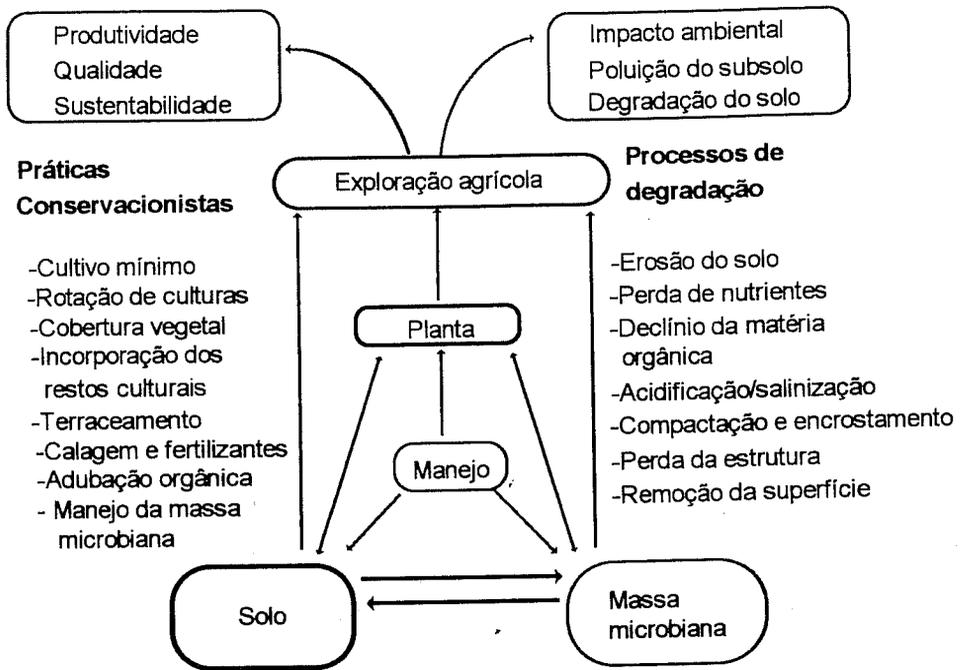


Figura 1. Componentes do agroecossistema sob ação climática, relações entre eles e implicações na produção agrícola e no meio ambiente.

Quadro 1. Participação dos organismos, matéria orgânica e material de origem no desenvolvimento do solo (Anderson 1992).

Principal evento	Processo, efeito e resultado
Formação da superfície	Deposição de material e exposição de rochas e minerais
Intemperismo (tempo)	Transformações do material de origem e colonização das superfícies (algas e líquens)
Acúmulo de matéria orgânica/húmus	Estabelecimento de microrganismos heterotróficos, interações biológicas e processos bioquímicos que permitem o crescimento de plantas superiores
Desenvolvimento do perfil do solo	Erosão/acúmulo, lixiviação, interação argila-matéria orgânica e efeitos antropogênicos

As relações entre os componentes da produção agrícola e suas conseqüências ambientais dependem do sistema de produção e tipo de exploração (Quadro 2). Na agricultura orgânica, por exemplo, a produtividade é baixa e o impacto ecológico é mínimo, enquanto na agricultura intensiva ou convencional - altamente dependente de insumo, energia e capital - conseguem-se altas produtividades e rentabilidades, mas o impacto ecológico é muito grande. Pode-se constatar, também, que à medida que o uso de insumos agrícolas torna-se reduzido, os processos biológicos têm sua importância aumentada. Inovações tecnológicas são cruciais para aumentar a eficiência da produtividade e a oferta de produtos, mas os avanços têm que apresentar compatibilidade ecológica e contribuir para a sustentabilidade do ecossistema. Sistemas de produção agrícola que combinem práticas naturais com inovações tecnológicas compatíveis, nos atuais padrões ecológicos exigidos pela sociedade, como pretendido na LISA ("low input sustainable agriculture"), precisam ser desenvolvidos para encontrar melhor equilíbrio, mas para isso é necessário conhecer todos os componentes do sistema produtivo.

O impacto das atividades agrícolas sobre o ambiente é assunto de elevada complexidade, tendo já sido abordado de modo mais específico por Jackson & Piper(1989), National Academy of Sciences(1989), Paul & Robertson(1989) e US-EPA(1990). Neste livro, serão considerados apenas aspectos relacionados aos microrganismos e processos biológicos do solo no contexto ambiental.

Quadro 2. Principais aspectos relacionados aos sistemas de produção agrícola.

Principais aspectos	Sistemas de produção agrícola			
	Convencional	Alternativo	Baixo insumo	Orgânico
Impacto ambiental	Alto	Médio	Baixo/alto ¹	Baixo
Sustentabilidade	Baixa	Média	Média/baixa ¹	Muito alta
Produtividade	Muito alta	Alta	Baixa	Baixa
Uso de insumos	Muito alto	Alto	Baixo	Nenhum
Contr. bioprocessos	Pequena	Média	Grande	Muito grande
Tipo de tecnologia	Muito específico	Específico	Baseado em recursos naturais	
Tendência atual	Racionalização	Em expansão	Em definição ²	Grandeexpansão

¹ No caso da agricultura itinerante dos trópicos.

² No caso da LISA ("low input sustainable agriculture") nos países desenvolvidos.

2. ORGANISMOS E PROCESSOS BIOLÓGICOS DO SOLO

2.1. Microbiomassa do solo

A diversidade e quantidade de organismos do solo são imensas. Ritz et al. (1994), por exemplo, salientam que em apenas 1 cm³ de solo sob pastagens podem ser encontrados milhões de bactérias, milhares de protozoários, centenas de metros de hifas de fungos, centenas de térmitas, insetos, além de outros organismos. Todos esses componentes vivos, a partir da década de 70, passaram a ser denominados de "microbiomassa do solo". A massa microbiana é um componente crítico dos ecossistemas naturais ou manipulados pelo homem, uma vez que atua na decomposição da matéria orgânica, alterando a disponibilidade de nutrientes para as plantas, e influencia as propriedades físicas do solo, como a estabilidade dos agregados. As bactérias e os fungos são responsáveis por cerca de 90% da atividade da biomassa, e os principais grupos de microrganismos que compõem a biomassa constam no Quadro 3.

Quadro 3. Principais grupos de organismos do solo e suas características mais relevantes (Siqueira 1993b).

Grupo de organismo	Organização celular	Tamanho/ Morfologia	Fisiologia/ Nutrição	Importância no solo	Representantes principais
Macro e mesofauna	Eucarioto pluricelular	> 0,2 mm Variada	Saprofítica Herbívora Detritívora	Decomposição Predação Parasita	Minhocas Artrópodes Moluscos
Microfauna	Eucarioto unicelular/ pluricelular	< 0,16 mm Variada	Saprofítica Predadores	Decomposição Equilíbrio biológico	Nematóides Protozoários Rotíferos
Bactérias	Procarioto unicelular	0,5 - 2,0 µm Bastonete esférico e cocos	Heterotrófica Autotrófica Simbiótica	Mineralização Transformação Patógenos Biocontrole Simbionte	<i>Pseudomonas</i> <i>Rhizobium</i> <i>Bacillus</i> <i>Arthrobacter</i>
Actinomicetos	Procarioto pluricelular	0,5 - 1,20 µm Filamentoso	Heterotrófico Simbiótico	Transformação Patógeno Biocontrole	<i>Actinomyces</i> <i>Streptomyces</i>
Fungos	Eucarioto unicelular/ pluricelular	5 - 10 µm Filamentoso	Heterotrófico Simbiótico	Decomposição Patógeno Biocontrole Simbionte	<i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Pythium</i> <i>Phytophthora</i>
Algas verde-azuladas	Procarioto unicelular/ pluricelular	< 10 µm Filamentoso	Autotrófica (fotolitotrófica) Simbiótica	Fotossíntese Fixação de N ₂	<i>Anabaena</i> <i>Nostoc</i> <i>Tolypotrix</i>
Algas verdes	Eucarioto unicelular/ pluricelular	-	Autotrófica	Fotossíntese	<i>Chlorella</i> <i>Chlorococcum</i> <i>Chlamydomonas</i>

2.2. O solo como hábitat

Um solo ideal para crescimento de plantas e para hábitat microbiano apresenta uma composição volumétrica aproximada de: 25% de ar, 25% de água e 50% de sólidos, sendo 45% de matérias minerais (areia, silte e argila) e 5% de matéria orgânica, composta de 4,5% de matéria orgânica morta e 0,5% de organismos vivos (Stotzky 1972, 1986, Richards 1974, Metting Júnior 1992). Esses valores, no entanto, variam muito em função das características e do uso e manejo do solo. A fase gasosa contém 80% de N_2 , menos de 5% de O_2 , 1% de Ar (argônio), além de CO_2 , H_2 , NH_4^+ e compostos voláteis. Esses gases ocupam, juntamente com a água, o espaço poroso do solo. A fração mineral forma complexos com o húmus, que atuam como hábitat da biota do solo (Juma 1993). Os componentes do solo influenciam as suas características físicas, químicas e mineralógicas, que por sua vez controlam a diversidade e a densidade microbianas nos micro-hábitats, que são microporos com diâmetro médio de 2 a 6 μm (Hattori & Hattori 1976; Tisdall & Oades 1982), onde ficam pequenas e inúmeras comunidades discretas circunscritas em seu próprio ambiente (Hattori & Hattori 1976; Hubbell 1986).

Os organismos macroscópicos do solo são representantes da fauna, principalmente dos invertebrados, que vivem não solo como predadores, detritívoros, decompositores de matérias orgânicas, predadores e parasitas de plantas e animais (Edwards 1991). Esses componentes da pedobiota contribuem pouco para os processos biológicos do solo, mas modificam o ambiente físico-químico (Alexander 1964), influenciando a atividade microbiana e atuando ativamente na cadeia trófica como reguladores de diversos processos (Gunn & Cherrett 1993, Lavelle et al. 1993), além de servirem como indicadores biológicos do impacto causado por distúrbios ecológicos no ecossistema (Fitter et al. 1985, Mitchell & Nakas 1986, Villani & Wright 1990).

Do ponto de vista microbiológico, o solo é ambiente estressante, fortemente limitado por nutrientes (Domergues et al. 1978), mas capaz de sustentar uma população microbiana extremamente diversa. Jastrow & Miller (1991) propuseram uma classificação hierárquica do solo como hábitat. As bactérias vivem nos espaços intramicroagregados, enquanto os organismos filamentosos, protozoários, nematóides pequenos e pêlos radiculares ocupam os espaços inter-microagregados. Nos agregados e macroporos encontram-se microartrópodes, anelídeos e raízes mais grossas. Os microrganismos ocupam menos de 5% do espaço poroso do solo, e a ocorrência de um microrganismo em determinado solo é a expressão de sua reação às condições ambientais, dentro dos limites da bagagem genética possuída pelo microrganismo. Isto permite sua sobrevivência de forma inativa ou dormente e de forma ativa como saprófitas, parasitas, simbioses ou comensalistas. O estado de dormência, que predomina nos solos em geral (Gray & William 1971b), pode ser

inerente ao próprio organismo, fase de seu ciclo vital ou imposto pelo ambiente. O uso de métodos microscópicos associados a testes bioquímicos demonstra que apenas parte das células microbianas do solo são ativas, cerca de 15 a 30% das bactérias e 2 a 10% de fungos (Vancura & Kunc 1988).

Pouco se conhece sobre a diversidade de microrganismos do solo (Hubbell 1986, Parkinson & Coleman 1991, Crossley et al. 1992, Fuhrmann 1993). Dentre os diversos grupos, o das bactérias é o que possui maior diversidade, estimando-se que existam mais de 800 espécies de bactérias e em torno de 460 espécies de fungos no solo. Valores comumente relatados de densidade microbiana no solo encontram-se no Quadro 4 e os fatores que afetam a densidade e atividade da biomassa microbiana estão listados no Quadro 5.

Quadro 4. Valores de densidade, massa da matéria seca e massa microbiana mais comumente relatados na literatura (modificado de Siqueira 1988).

Grupo de microrganismo	Densidade	Matéria seca	Biomassa	
	Orgs./g de solo	kg/ha	kg/ha	% massa do solo
Bactérias	10^6 a 10^9	2.600	100-4.000	0,10
Actinomicetos	10^4 a 10^8	220	0,2-1.000	0,01
Fungos ¹	10^3 a 10^7	2.000	400-5.000	0,01
Algas	10^2 a 10^5	10	5-500	< 0,01
Microfauna	10^2 a 10^7	100	2-100	< 0,01

¹ Também estimado em 100-1.000 m de hifas/g de solo.

Quadro 5. Alguns fatores que afetam os organismos do solo.

<u>Físicos</u>	Temperatura, umidade, aeração, estrutura, viscosidade, tensão osmótica, componente gasoso
<u>Químicos</u>	Carbono orgânico, nutrientes, pH, Eh, metais pesados, xenobióticos, antibióticos, vitaminas
<u>Biológicos</u>	Morfologia, fisiologia, genética e reprodução do organismo, interações biológicas, presença de raízes
<u>Manejo</u>	Uso de fertilizantes, corretivos e pesticidas, manejo dos restos culturais, preparo do solo, erosão

A diversidade da microbiota do solo pode ser avaliada em termos morfológicos (tipos morfológicos), fenotípicos (composição química, FAME "long chain fatty acids methyls ester analyses" e capacidade metabólica, BIOLOG) e genotípicos (genes específicos). As técnicas modernas, como o BIOLOG ("multiple substrate reduction tests") e as técnicas moleculares, como as reações por PCR ("polymorphism chain reaction") e as hibridizações com seqüências 16S rRNA (vários trabalhos compilados por Ritz et al., 1994), representam avanços para entender esse assunto complexo e ainda pouco conhecido.

Demezas et al. (1992), por exemplo, estudaram a similaridade fenotípica de 300 isolados de *Pseudomonas fluorescences* pelo sistema BIOLOG e verificaram que os fenótipos não-rizosféricos eram metabolicamente mais versáteis que aqueles selecionados pela rizosfera do milho. Através da extração e análise do DNA das bactérias do solo, Torsvik et al. (1994) conseguiram detectar uma diversidade cerca de duzentas vezes superior à encontrada pela utilização de técnicas tradicionais de caracterização fenotípica *in vitro*. Grupos específicos de microrganismos como o rizóbio, que são bactérias fixadoras de nitrogênio (FBN) e simbioses de leguminosas, apresentam grande diversidade nos trópicos. Moreira et al (1993) encontraram 23 "clusters" (grupos) eletroforéticos (SDS-PAGE - eletroforese em gel de poliacrilamida) e 30 estirpes que não se agruparam entre estirpes de rizóbio isoladas de leguminosas florestais nativas da Amazônia e Mata Atlântica. Dentre estes "clusters", só nove continham as espécies atualmente conhecidas, cuja descrição é baseada em isolados de áreas temperadas. Mesmo dentro de uma única espécie, que se originou de uma base genética estreita, como *Bradyrhizobium japonicum*, a análise de parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos detectou grande variabilidade entre estirpes (Boddey & Hungria 1994).

2.3. Fatores ambientais e microrganismos

A biodiversidade dos microrganismos permite a sua sobrevivência em diversos habitats (Parkinson & Coleman 1991). Dentre os microrganismos, as bactérias formam o grupo com maior diversidade fisiológica, o que propicia maior adaptabilidade. Por isso, é possível selecionar, dentro de certos limites, organismos tolerantes a diversos fatores estressantes, como: alta temperatura, acidez do solo, concentrações elevadas de antibióticos ou metais pesados. A existência de um microrganismo em determinado tempo e local resulta da sua evolução, da existência de fatores abióticos favoráveis e de relações biológicas diversas com competidores, antagonistas e predadores (Stotzky 1972, Wardle 1992, Wardle & Hungria 1994). Com a modificação do ambiente do solo, a capacidade de adaptação de uma comunidade é variável em função de sua constituição genética e é conhecida como "tampão biológico do solo". Pouco se sabe, porém, sobre os impactos que alterações ambientais podem ter sobre os microrganismos do solo. Considerando-se a hierarquia

ecológica no ecossistema edáfico (Hattori & Hattori 1976), tem-se que o grau de suscetibilidade às alterações ambientais segue a ordem:

Solo < micro-hábitat < microcolônias < microrganismo

A seguir serão abordados os principais fatores que influenciam a densidade e atividade da microbiota do solo.

Mineralogia do solo

Os microrganismos ocorrem predominantemente adsorvidos às partículas individuais do solo, na superfície ou dentro dos agregados, e as características mineralógicas do solo podem influenciar a composição e sobrevivência de espécies microbianas (Juma 1993). As células microbianas, especialmente as bactérias, possuem cargas elétricas que interagem com as superfícies dos colóides do solo (Stotzky 1986). A grande área de superfície, capacidade de retenção de nutrientes, imobilização de enzimas e o efeito tampão são algumas das propriedades dos colóides que influenciam os microrganismos e seus processos no solo (Burns 1983, 1986, Stotzky 1986). Enquanto os colóides minerais (argilas) adsorvem metabólitos tóxicos e oferecem proteção física às células, os colóides orgânicos atuam como fonte de nutrientes e contribuem para a agregação do solo. O efeito dos colóides pode ser exemplificado pela presença de montmorilonita, que diminui o crescimento e a atividade dos fungos e, conseqüentemente, a disseminação de doenças fúngicas como a fusariose da bananeira e do melão, e leptospirose enzótica (Siqueira & Franco 1988).

Microporos com diâmetro entre 2 e 6 μm são micro-habitats favoráveis às bactérias, pois servem de proteção contra a predação por protozoários (Hattori & Hattori 1976). Desse modo, Heijnen & Van Venn (1991) demonstraram que a sobrevivência de rizóbio introduzido no solo aumentava com a adição de bentonita, devido ao aumento no número de poros com diâmetro menor do que 6 μm (Heijnen et al. 1993). Estas relações têm conseqüências diretas nos bioprocessos do solo, como a dinâmica do N (Juma 1993, Wardle 1992).

Umidade e aeração do solo

Os espaços inter e intra-agregados do solo são ocupados por água e/ou gases, com forte influência na atividade microbiana. O volume total de poros de um solo varia de 50 a 60%, sendo 15 a 45% ocupados pela água e o restante por gases. Os gases do solo são os mesmos encontrados na atmosfera (N_2 , O_2 , CO_2 , etc.), mais aqueles decorrentes da atividade biológica como, por exemplo, o CH_4 e o H_2S (Stotzky 1972). A aeração do solo é crítica para a densidade de microrganismos e seus processos metabólicos, pois a maioria da microbiota do solo é aeróbia, ou seja, utiliza o O_2 como receptor final de elétrons. O volume mínimo para aeração

adequada de um solo deve ser de 10%, e mudanças de metabolismo aeróbio para anaeróbio ocorrem quando a concentração de oxigênio for inferior a 1% (Drew & Lynch 1980, Tiedje et al. 1984).

O oxigênio é o mais forte oxidante utilizado por sistemas biológicos, pois atua fortemente no potencial de oxi-redução e nos processos bioquímicos relacionados (Quadro 6). Potenciais de oxi-redução entre +600 e +300 mV, que ocorrem em condições aeróbias, favorecem os microrganismos heterotróficos e a mineralização, enquanto em condições anaeróbias com Pf de 0 a -220 mV, ocorre acúmulo de H₂S, produção de ácidos orgânicos e CH₄, além do favorecimento da desnitrificação (Tiedje et al. 1984).

Devido à respiração dos microrganismos e das raízes, a concentração de CO₂ no solo é bastante superior à da atmosfera. Certas espécies de fungos e bactérias nitrificadoras mostram-se altamente adaptadas a estas condições, preferindo profundidades próximas à superfície do solo, onde a concentração de CO₂ é maior, decorrente da elevada respiração. Dentre os principais gases do solo, o N₂ é o que tem a mais baixa solubilidade em água, podendo se tornar limitante para os microrganismos que fazem sua fixação.

A umidade, a aeração, a natureza e quantidade de matérias solúveis (inclusive gases), a pressão osmótica e o pH da solução são afetados pela água do solo. A água influencia, também, os processos de decomposição da matéria orgânica, a mineralização e degradação de pesticidas e o ciclo da biota do solo (Parr et al. 1981).

Quadro 6. Relação entre a aeração, potencial de oxi-redução e processos bioquímicos no solo (Tiedje et al. 1984, Paul & Clark 1989).

Estado de oxigenação	Processo metabólico	Potencial de oxi-redução (Eh)	Conseqüências
Aeróbio	Respiração Redução de NO ₃ ⁻ e de SO ₄ ²⁻	+ 600 a + 300 mV	Favorece os heterotróficos e a mineralização Favorece oxidação de elementos; resultam em SO e NH ₃ Em Eh próximo a 300 ocorre desnitrificação e acúmulo de ácidos orgânicos no solo
Microaerofílico	Processos redutivos	+ 300 a 0 mV	Ocorre a redução de Mn ⁴⁺ e Fe ³⁺ Favorece a desnitrificação Acúmulo de NH ₄ ⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ no solo
Anaeróbio	Redução do SO e fermentação	0 a -220 mV	Perda de S e acúmulo de H ₂ S Produção de ácidos orgânicos de CH ₄ Causa fitotoxicidade

Vários processos biológicos importantes são maximizados nos níveis de umidade entre 50 e 70% da capacidade de campo (Domsch et al. 1983) e, de modo geral, a água do solo pode afetar a atividade bacteriana de duas maneiras: restringir o movimento da bactéria para novos *loci* de nutrientes ou restringir o metabolismo de colônias estabelecidas através da deficiência de nutrientes, tanto pela menor absorção como por alterações na integridade da membrana (Parr et al. 1981).

O potencial hídrico do solo tem como componentes principais o potencial matricial, relacionado com a água atraída pelas superfícies sólidas e contida nos pequenos poros do solo, e o potencial osmótico, relativo à água em solução. Potenciais em torno de -0,01 MPa são, de modo geral, ótimos para a atividade microbiana. A maioria das bactérias, protozoários e microalgas são inativas em baixos potenciais, enquanto leveduras e fungos filamentosos continuam a metabolizar. Bactérias do gênero *Rhizobium*, por exemplo, toleram estresses de até -1,5 a -4,0 MPa, enquanto ascomicetos filamentosos e leveduras podem tolerar potenciais de até -65 MPa (Paul & Clark 1989). O movimento de bactérias e zoosporos eucarióticos é restrito em potenciais inferiores a -0,5 MPa. Em potenciais hídricos elevados, as células podem se mover e metabolizar na solução do solo sem envolvimento dos colóides orgânicos e minerais. Já em baixos potenciais hídricos, as células ficam confinadas à fina camada de água (biofilme) adsorvida aos colóides onde a absorção de nutrientes e a competição ficam sujeitas às propriedades eletroquímicas das superfícies. Além das interfaces líquido/sólido, os biofilmes podem ocorrer nas interfaces líquido/líquido e líquido/gasoso. Os microrganismos unicelulares são restritos aos filmes de H₂O, enquanto os fungos filamentosos e actinomicetos podem atravessar os vazios insaturados, ainda que requeiram fase aquosa para a absorção de nutrientes. Fungos do gênero *Phytophthora*, por exemplo, requerem poros, preenchidos com água, de pelo menos 40 a 60 µm de diâmetro, enquanto a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* requer poros de apenas 1 a 1,5 µm (Parr et al., 1981).

Temperatura

Existem microrganismos adaptados às mais diversas temperaturas, sendo encontrados desde as calotas polares (-50° C) até o deserto de Golbi (50° C) e nascentes de água quente (90° C) (Stotzky, 1972; Paul & Clark, 1989), havendo registros de bactérias capazes de sobreviver a 250°C (Barros & Deming, 1983). Com relação à temperatura, os microrganismos são classificados como criófilos, mesófilos e termófilos, com temperatura ótima < 20° C, entre 20 e 40° C (que inclui a maioria dos microrganismos do solo) e > 40° C, respectivamente.

De modo geral, gêneros de bactérias aeróbias FBN têm temperatura ótima de crescimento e atividade entre 25 e 37°C. Alguns gêneros, porém, são adaptados a

temperaturas mais baixas (*Beijerinckia*), enquanto outros o são a temperaturas mais elevadas (*Azospirillum*), podendo existir variações na adaptação de estirpes da mesma espécie ("Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", em Krieg & Holt 1984). Estirpes tropicais de *Azospirillum brasiliense* e *Azobacter chroococcum*, por exemplo, apresentaram taxas mais elevadas de fixação de N₂ do que estirpes temperadas em altas temperaturas, demonstrando adaptação a seus ambientes de origem (Jain et al. 1987). Microrganismos termofílicos ocorrem em esterqueiras e pilhas de compostagem.

Transição de faixa de temperatura ótima de determinada espécie para temperaturas mais altas ou mais baixas causam depressão na população e em suas funções de até 100% (Domsch et al. 1983). Um exemplo de limitação ocasionada por altas temperaturas em processos biológicos importantes é o da fixação de N₂ em feijoeiro, que é extremamente sensível a temperaturas superiores a 35° C (Hungria et al. 1993a), exceto com algumas estirpes de rizóbio que também nodulam espécies florestais (Hungria & Franco 1993).

A perda da cobertura do solo provocada por erosão, desmatamento ou práticas agrícolas causa elevação na temperatura do solo e interfere nos processos biológicos. A temperatura máxima em um solo descoberto, por exemplo, foi de 38° C, enquanto a cobertura com 6,6 t/ha reduziu essa temperatura para 30° C (Morote et al. 1990). O aumento da temperatura decorrente da retirada da cobertura vegetal provocou um decréscimo de 65% na biomassa microbiana após quatro anos de cultivo (Cattelan & Vidor 1990b), observando-se decréscimos nas populações de bactérias, fungos, actinomicetos e solubilizadores de fosfato, enquanto a proporção de endosporos de bactérias aumentou 57%, refletindo as condições adversas ao desenvolvimento microbiano (Cattelan & Vidor 1990a).

Acidez do solo e toxicidade do Al

Uma vasta área de solos do mundo, incluindo a maioria dos solos brasileiros, são afetados pela acidez elevada, problema este que é exacerbado pela aplicação de doses elevadas de fertilizantes com certos nutrientes e até, em menor escala, pela produção de H⁺ durante o processo da FBN, atividade heterotrófica de raízes e microrganismos, lixiviação de bases e deposição atmosférica de H⁺ (Paul & Clark 1989, Robarge & Johnson 1992). A redução do pH do solo aumenta a solubilidade de minerais com Al e metais pesados potencialmente tóxicos, como Mn, Fe, Zn, Cu, Cd e Pb. Al, Mn e Fe são de ocorrência generalizada na composição mineral da maioria dos solos, enquanto Cd, Pb e Hg são menos comuns, tendo maior ocorrência em áreas próximas a indústrias, mineração ou tratadas com resíduo de esgoto ou composto de lixo urbano.

Em relação à acidez, os microrganismos são classificados como acidófilos, neutrófilos e insensitivos (Alexander 1977), além dos basófilos, que preferem ambientes alcalinos. Em geral, as bactérias são neutrófilas e os fungos acidófilos. No entanto, o pH da suspensão do solo não reflete o pH do micro-hábitat, devendo ser interpretado com muita cautela, o que dificulta generalizações sobre as relações ecológicas do pH. Valores críticos de pH para alguns microrganismos e processos biológicos apresentam ampla variação, mas aqueles melhor estudados encontram-se no Quadro 7.

Devido à plasticidade fisiológica dos microrganismos, é possível selecionar estirpes nativas ou obter mutantes tolerantes a estresses provocados pela acidez. Estirpes ou isolados nativos tolerantes à acidez elevada são mais facilmente obtidas de populações adaptadas a estes ambientes, sendo inclusive já encontrados genes para tolerância à acidez (act). Como exemplo, tem-se a estirpe de rizóbio INPA 07-B, isolada de leucena em solos ácidos, que apresenta maior tolerância à acidez do que outra estirpe da mesma espécie, mas isolada de solo com pH alcalino (Moreira & Dreyfus, dados não publicados). Também foi constatado que a FBN em solos ácidos com estirpes tolerantes pode ser equivalente à fixação com estirpes sensíveis após a calagem (Thornton & Davey 1983). Assim, o desenvolvimento de plantas ou de rizóbio e práticas capazes de aumentar a FBN em solos ácidos poderiam reduzir aplicações de N e calagem, em conformidade com os princípios da agricultura sustentada (Cline 1991).

Quadro 7. Valores críticos generalizados de acidez (pH) de alguns microrganismos ou processos biológicos.

Faixa de pH	Microrganismos ou processos
Acima de 5,5	Nitrificação, <i>Derxia</i> , <i>Azotobacter</i> , algas verde-azuladas, <i>Glomus mosseae</i> , <i>Rhizopogon</i>
5,5 até 4,0	Maioria dos fungos MVA, <i>Rhizobium</i> , estrutura da comunidade microbiológica
4,0 até 3,0	<i>Bradyrhizobium</i> , fungos ectomicorrízicos, <i>Beijerinckia</i> , decomposição da matéria orgânica, amonificação, respiração do solo
Abaixo de 3,0	<i>Acetobacter diazotrophicus</i> , <i>Thiobacillus</i> , <i>Pisolithus</i> , enzimas

Os mecanismos fisiológicos que garantem a adaptação dessas estirpes às variações na permeabilidade da membrana a prótons, ou à atividade de extrusão destes, parecem ser determinados geneticamente. Além disso, a capacidade de manter pH intracelular estável, tolerar toxicidade de certos elementos em pH baixo e tolerar deficiências de elementos como Mo e PO_4^{3-} são características relacionadas com a adaptação à acidez elevada. Um mecanismo de tolerância foi determinado na estirpe ANU 1173 de *Rhizobium leguminosarum trifolii*, que apresenta menor permeabilidade da membrana a prótons e maior atividade de extrusão destes do que a estirpe ANU 794 da mesma espécie, que é sensível à acidez (Chen et al. 1993). Os autores conseguiram, inclusive, determinar os genes responsáveis por essa tolerância.

No caso do rizóbio, a adaptação a condições ácidas tem, ainda, um papel importante na simbiose. Estirpes de rizóbio tolerantes à acidez aderem mais às raízes do que estirpes sensíveis (Howiedson et al., 1993), o que parece estar relacionado a menor disponibilidade P e Ca no solo. Outras bactérias FBN, isoladas das raízes de cana-de-açúcar, são capazes de fixar nitrogênio em meio de cultura com pH 3,0 (Cavalcante & Döbereiner, 1988).

A toxicidade do alumínio é um importante fator limitante ao crescimento de plantas em solos ácidos, além de afetar também vários microrganismos fixadores de N_2 em vida livre ou em simbiose. Concentrações baixas (0,1 mg/l) de Al podem ser tóxicas a *Anabaena cylindrica*, especialmente quando $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ é a principal forma solúvel (Pettersson 1983). O grau de tolerância ao Al parece ser um caráter genético estável, que implica diferenças bioquímicas e fisiológicas (Flis et al., 1993); de modo geral, *Bradyrhizobium* spp. são mais tolerantes à acidez e ao Al do que *Rhizobium* spp. Silva & Franco (1984) testaram 211 estirpes isoladas de várias espécies de leguminosas florestais quanto a tolerância à acidez e ao Al em meio de cultura sólido e verificaram que das 96 estirpes encontradas com tolerância a pH 4,6, apenas uma não cresceu quando $25\mu\text{M Al}_2(\text{SO}_4)_3$ foram adicionados ao meio. Nem sempre, porém, a tolerância à acidez resulta em tolerância ao Al (Keyser & Munns 1979, Lowendorf & Alexander 1983)

Os fungos MVA também podem ser prejudicados pela acidez (Siqueira et al. 1984, 1990), mas existem espécies fúngicas tolerantes e sensíveis à acidez e ao Al. O fungo *Glomus mosseae*, por exemplo, é muito sensível ao Al^{3+} , enquanto *Gigaspora margarita* apresenta elevada tolerância (Siqueira et al. 1984).

O impacto da prática de calagem de solos ácidos sobre a microbiota e os processos biológicos são discutidos em Siqueira & Franco (1988).

Nutrição microbiana

Stanier et al. (1977) agruparam os microrganismos, segundo a fonte de energia e a principal fonte de carbono, em: fotótrofos (utilizam a luz), quimiótrofos ou litótrofos (utilizam substâncias inorgânicas) e heterótrofos (utilizam compostos orgânicos). O carbono é a principal fonte de nutrientes da célula microbiana,

participando com 47% da sua matéria seca (Jenkinson & Ladd, 1981). Segundo a fonte de carbono, os microrganismos podem ser agrupados em dois grandes tipos: autótrofos (utilizam carbono inorgânico ou dióxido de carbono como fonte de carbono) e heterótrofos (utilizam carbono orgânico como fonte). Os microrganismos desse último grupo, também conhecidos como organótrofos, são de grande importância nos agro e ecossistemas terrestres e os principais responsáveis pela degradação da matéria orgânica do solo e outras transformações essenciais aos processos vitais do ecossistema (Figura 2).

A massa celular microbiana é composta essencialmente pelos elementos carbono, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio. Outros elementos (dentre os 92 de ocorrência natural), embora participem da composição celular em quantidade pequena, são funcionalmente importantes, como fósforo, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, zinco, manganês, cobre, molibdênio e cobalto. Entre 70 e 75% da massa microbiana é formada de água, e as proteínas são a classe mais abundante de macromoléculas.

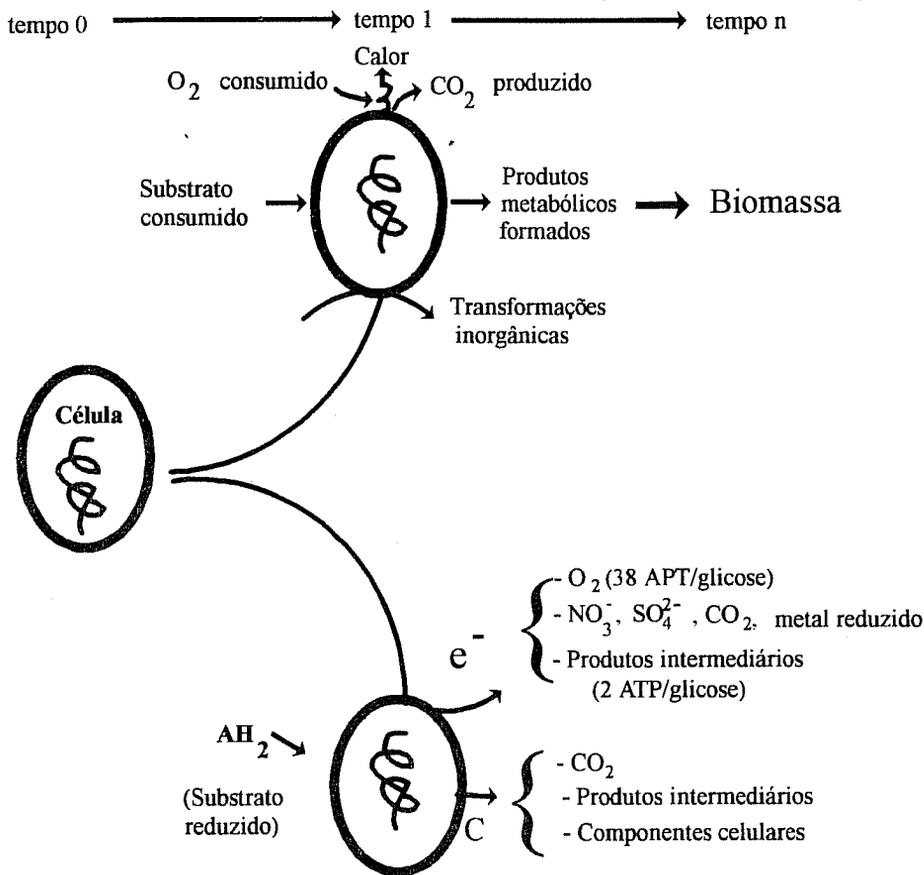


Figura 2. Processos envolvidos no crescimento microbiano (Waid 1984)

Os nutrientes necessários aos microrganismos são subdivididos em macro e micronutrientes, conforme sejam necessários às células em grande e pequena quantidade, respectivamente. Brock & Madigan (1988) destacam, entre os macronutrientes, o carbono, sendo suas fontes as mais diversas, como aminoácidos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, açúcares, compostos aromáticos, etc. O nitrogênio (12 a 15% da massa celular) é absorvido principalmente como amônia e nitratos, pelos microrganismos decompositores, e como nitrogênio molecular atmosférico, N_2 , pelos fixadores deste elemento. O fósforo ocorre na natureza na forma de fosfatos inorgânicos e orgânicos, sendo os primeiros (PO_4^{2-}) muito utilizados no crescimento microbiano, e os últimos utilizados sob a ação das enzimas fosfatases. O enxofre, originado de sulfatos (SO_4^{2-}) e sulfetos (HS^-), é fundamental na formação dos aminoácidos cisteína e metionina e das vitaminas tiamina, biotina e ácido lipoico. O potássio é importante na ativação de enzimas envolvidas na síntese protéica e o magnésio, no crescimento microbiano, atuando na estabilização de ribossomos, membrana celular e ácidos nucleicos, bem como na atividade enzimática relacionada à transferência de fosfato. O cálcio participa na formação da parede celular bacteriana e na estabilidade térmica de seus endosporos; o sódio é requisitado principalmente pelos microrganismos de ambientes salinos e o ferro é um componente importante de inúmeras enzimas, especialmente as envolvidas na respiração.

Ainda, segundo Brock & Madigan (1988), destacam-se entre os micronutrientes: cobalto, imprescindível à síntese da vitamina B12; zinco, exercendo papel fundamental na estrutura de muitas enzimas, como a anidrase carbônica e as polimerases de RNA e DNA; molibdênio, importante na síntese das molibdoflavoproteínas, que atuam na assimilação do nitrato, pela redutase do nitrato, e do N_2 , pela nitrogenase; cobre, também necessário às enzimas envolvidas na respiração; manganês, importante para as enzimas que atuam sobre compostos fosfatados, sendo indispensável aos microrganismos fotossintetizadores e às enzimas como a dismutase superóxida, que desintoxica formas tóxicas de oxigênio; níquel, presente nas hidrogenases, enzimas que funcionam na absorção ou liberação de H_2 ; e o tungstênio e o selênio, presentes nas bactérias que metabolizam o formato (substrato usado pelas bactérias metilótrofas).

Sucessão microbiana

Os microrganismos heterotróficos são responsáveis pela oxidação das matérias orgânicas no solo, garantindo o fluxo de energia e nutrientes no ecossistema. Para que isso ocorra, o substrato ou solo precisa primeiro ser colonizado pelos decompositores, e isto envolve sucessão microbiana tal como se verifica na colonização microbiana do solo. Os primeiros microrganismos colonizadores de um solo ou substrato são chamados "pioneiros". Num solo recém-formado (próximo a

uma zona de mineração, por exemplo), eventos casuais possibilitam o aparecimento dos pioneiros, que encontram hábitat adequado à sua proliferação, ocupam os nichos disponíveis, sem competidores, e daí passam a "direcionar" os eventos posteriores de um processo chamado de "sucessão ecológica". Esta ocorrerá a partir do momento em que as populações pioneiras modifiquem o hábitat, de maneira que novas populações possam ali se desenvolver. Como exemplo, pode-se dizer que é bem possível que microrganismos anaeróbios facultativos gerem condições anaeróbias, "forçando" o aparecimento de populações anaeróbias obrigatórias (Atlas & Bartha, 1981). Esta é uma sucessão autogênica, em oposição a uma sucessão alogênica gerada, por exemplo, por mudança de origem climática.

A sucessão, em geral, pode ser determinada por organismos autotróficos ou heterotróficos. A sucessão autotrófica tem maior probabilidade de ocorrer nos ambientes com abundância de energia solar. Haverá acúmulo de biomassa microbiana pelo tempo que os autótrofos tiverem produção primária superior à da respiração. Esta sucessão autotrófica, embora rara, ocorre nos hábitats recém-formados, em área de mineração ou, ainda, sobre rochas vulcânicas (Atlas & Bartha, 1981). Entende-se que, neste caso, as populações têm poucas exigências nutricionais e relativa tolerância às condições ainda "inóspitas" do local. Muitos microrganismos fixadores de N₂, fungos micorrízicos e cianobactérias, assim como líquens, reúnem habilidades que os elegem como possíveis organismos pioneiros em tais ambientes.

A sucessão heterotrófica, embora constituída por etapas (ou "seres") temporárias, tende a se perpetuar e a atingir um clímax estável, desde que o seu suprimento nutricional seja contínuo. Em que pese a dificuldade de aplicar o conceito de clímax às comunidades microbianas (clímax é a forma estabilizada da interação seres vivos/ambiente, em que esses componentes mantêm-se em harmonia e equilíbrio), a sucessão heterotrófica poderá atingir este estágio máximo de desenvolvimento, refletindo uma situação dinâmica (e nunca estática) de circunstâncias. Em solos onde se aplicam práticas de manejo uniformes, ao longo do tempo, tal situação clímax poderá ser atingida. Neste ponto, o hábitat edáfico da comunidade microbiana clímax atingirá a "homeostase", ou seja, tenderá a resistir a mudanças e manter seu equilíbrio dinâmico.

Quanto aos microrganismos heterotróficos que procuram ocupar os inúmeros nichos ecológicos do solo, postula-se hoje a hipótese da seleção "r" e "K" dos microrganismos, ou seja, baseia-se na premissa de que eles têm "alternativas" de serem ou do tipo estrategistas "r", oportunistas e fugitivos, com alta taxa de obtenção de nutrientes, alta resistência dos esporos a estresses, sendo enfim um "especialista" executando muito bem uma só atividade, ou do tipo estrategista "K", espécies em equilíbrio, com alta afinidade por nutrientes, alta sensibilidade dos esporos aos estímulos, enfim um "generalista" que executa indiferentemente muitas atividades

(Andrews & Harris 1986). De acordo com estes autores, em termos de ambiente edáfico, os habitats com "baixa" densidade populacional fornecem condições "r", ou seja, os fatores de crescimento que dependem da densidade de população são negligíveis, em que o componente regulador do crescimento populacional ocorre via mecanismo "independente da densidade", tal como nos extremos climáticos (tempestades esporádicas, extremos de temperatura e seca, etc.), fenômenos estes que propiciam a mesma proporção de indivíduos em qualquer densidade populacional. Inversamente, nos ambientes com "alta" densidade populacional, os habitats edáficos propiciam condições "K", em que o crescimento populacional é limitado por fatores "dependentes da densidade", tais como suprimento nutricional, predação ou presença de metabólitos tóxicos.

Num solo que recebeu adição recente de substrato orgânico (na "adubação verde" ou incorporação de resíduos de cultivos, por exemplo), estabelece-se inicialmente uma condição "r", podendo ocorrer declínio temporário na densidade populacional. Em seguida, geralmente ocorre uma condição "K", em que a taxa específica de crescimento populacional aproxima-se de zero (estabilidade dinâmica), de acordo com a capacidade "K" de suporte do ambiente (capacidade de manutenção ambiental, ou seja, limite em que determinado ecossistema ou habitat é capaz de manter populações em nível de equilíbrio, i.e., não há modificação significativa no número de indivíduos). Ainda, segundo Andrews & Harris (1986), a maioria dos ambientes naturais microbianos apresenta oscilações entre os extremos "r" e "K". Resta-nos saber se realmente nesta característica estão incluídos todos os nossos solos tropicais que, como veremos adiante, diferem dos solos de regiões temperadas em relação à biomassa e à atividade dos microrganismos do solo.

Cobertura vegetal e uso da terra

Do ponto de vista nutricional, o solo sem cobertura vegetal é um grande deserto para os microrganismos heterotróficos. É nas imediações das raízes, isto é, na rizosfera, que eles encontram os substratos que necessitam para sua proliferação. Conseqüentemente, vários processos importantes do solo que influenciam a produção vegetal e a qualidade ambiental são maximizados na rizosfera (Newman 1978, Curl & Truelove 1986, Chanway et al. 1991). Entre eles, podemos citar: a decomposição da matéria orgânica, a desnitrificação, a nitrificação, a fixação biológica de N_2 e as interações microbiológicas.

O ambiente rizosférico, por definição, é um ambiente edáfico com forte influência da cobertura vegetal. Esta influência é muito complexa (Quadro 8) e varia em função da espécie vegetal presente (Klein et al. 1990). Leguminosas que formam simbiose com bactérias fixadoras de N_2 , por exemplo, acrescentam mais nitrogênio

ao ambiente edáfico do que espécies vegetais não fixadoras, alterando a relação C:N e contribuindo não só para o crescimento de outras espécies vegetais não-fixadoras, mas também para o crescimento de microrganismos de outras espécies, o que amplia a diversidade biológica. O reflorestamento de áreas submetidas anteriormente à mineração, com leguminosas como a *Mimosa scabrella* (bracatinga), é mais eficiente que os realizados com outras espécies como *Pinus* e *Eucaliptus*, no tocante à recuperação da biodiversidade microbiana (Maschio et al. 1992).

A diversificação de espécies vegetais favorece a cobertura eficiente do solo, a exploração de volume do solo e reduz o "estreitamento genético", contribuindo para maior diversidade e atividade de microrganismos. Em diversos sistemas de rotação (como soja/trigo e milho/trigo), sucessão (como soja/milho/trigo) e consórcio (como feijão-milho) de culturas foi observado que a presença da leguminosa aumenta a biomassa microbiana, o número de células de microrganismos fixadores de N₂ (como *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium etli*, *Azospirillum*), fungos micorrízicos VA e a biodiversidade (Andrade et al. 1993a,b, Colozzi-Filho et al. 1993).

Quadro 8. Diferenciação física, química e biológica do solo não-rizosférico e do solo próximo às raízes (Smith 1990).

Característica	Solo rizosférico	Solo não-rizosférico
<u>Biológica</u>		
- Densidade microbiana	Alta	Baixa
- Diversidade microbiana	Alta	Baixa
- Atividade biológica	Alta	Baixa
- Hábitat de simbioses	Excelente	Pobre
- Micorrizas e rizóbio	Abundantes	Inexistentes/dormentes
- Patógenos radiculares	Ativos	Dormentes
<u>Química</u>		
- Compostos orgânicos de baixo peso molecular	Diversos e abundantes	Raros e transitórios
- pH e Eh	Baixo	Mais alto
- Potencial de água	Mais negativo	Menos negativo
- Potencial osmótico	Baixo	Alto
- Relação O ₂ :CO ₂	Melhor	Pior
<u>Física</u>		
- Espaço poroso	Menor	Maior
- Densidade do solo	Maior	Menor
- Agregação	Melhor	Pior

Do mesmo modo, quando o cacau é consorciado com outras espécies arbóreas, há um aumento na biomassa microbiana (Grisi 1976), e solos cultivados com milho e feijão pela técnica de culturas em aléias ("alley cropping") com *Erythrina* e *Gliricidia* apresentaram teores mais elevados de C e N totais, C e N microbianos, C solúvel e umidade com relação aos cultivos sem espécies arbóreas (Mazzarino et al., 1993). A diversidade de espécies de fungos micorrízicos VA também foi maior em ecossistemas naturais (cerrado e gramíneas nativas) do que em agrossistemas com monoculturas no Estado de Minas Gerais (Siqueira et al., 1989). Por outro lado, a monocultura prolongada pode provocar alterações na microbiota rizosférica, favorecendo microrganismos com efeitos adversos à cultura e contribuindo para sua baixa sustentabilidade.

Estresses naturais ou causados pelo homem em processos edáficos ou fisiológicos podem causar mudanças na composição de espécies microbianas, na sucessão de espécies simbiotes e nos atributos morfológicos e fisiológicos das associações simbióticas (Allen 1992). A retirada da cobertura vegetal provoca um dos mais drásticos efeitos, seja pela diminuição da proteção do solo contra os raios solares e aumento da erosão, seja pela redução dos compostos orgânicos fornecidos através da exsudação das raízes. Por exemplo, propágulos de fungos micorrízicos VA são ausentes ou pobremente representados em solos erodidos (Hall & Armstrong 1979). A reintrodução destes fungos é geralmente necessária para promover o crescimento vegetal nestes solos (Aziz & Habte 1990).

O efeito da perturbação do solo parece ser maior quanto mais complexo for o ecossistema. Liberta & Anderson (1986) não encontraram diferenças significativas na abundância de esporos e colonização de raízes por fungos VA entre solos de campina e um campo adjacente de milho. Em contraste, quando solos de floresta foram perturbados, a porcentagem de colonização micorrízica foi reduzida à metade. Quando solos sob mata nativa do Paraná foram comparados com solos cultivados por 7,5 anos, observou-se uma queda drástica nos teores de matéria orgânica e de C e N do solo e no tamanho dos agregados do solo (Santos 1993). Com essa redução na matéria orgânica, que serve como fonte de alimentos, e nos micro-habitats dos microrganismos, e com maiores variações na temperatura e umidade do solo, ocorre um decréscimo na população microbiana em geral (Hungria et al. 1994a). A perturbação do solo e da vegetação também afetaram adversamente a população de microrganismos (fungos e bactérias em geral) e de fungos micorrízicos em estudos conduzidos por Jasper et al. (1991) e Jha et al. (1992). Em estudo realizado nos EUA, gastaram-se 40 anos após a perturbação no solo para a colonização micorrízica atingir 90% da colonização original (Safir 1987).

Estudos conduzidos em solos do Rio Grande do Sul sobre o impacto de práticas agrícolas na ecologia microbiana do solo (Vidor 1992) indicam grandes alterações

conforme resumidas a seguir. O uso prolongado de calcário aumentou a população de bactérias em 4,5 vezes e reduziu a de fungos à metade. As queimadas reduziram os fungos e o teor de C e aumentaram a nitrificação. O cultivo convencional aumentou a decomposição e a nitrificação, enquanto o plantio direto aumentou a imobilização de N no solo e a demanda de N das culturas. A irrigação e a cobertura do solo favoreceram a nodulação. Hungria et al. (1994a) também resumiram os resultados dos efeitos do tipo de cultivo na microbiologia de solos do Paraná. Eles verificaram que a biomassa microbiana, a população de nitrificadores e de *Bradyrhizobium japonicum* foram favorecidas pelo plantio direto em comparação ao plantio convencional, enquanto os amonificadores não foram alterados. O impacto do uso da terra sobre a microbiota do solo é mais intenso em áreas de mineração, onde a atividade biológica do solo e a densidade microbiana são drasticamente reduzidas ou eliminadas (Gardner & Malajczuk 1988, Dick 1992, Fritze et al. 1992). A duração do impacto das perturbações ambientais sobre a microbiota pode durar séculos (Quadro 9) e até mesmo ser irreversível.

Considerações gerais

As populações microbianas do solo sofrem, portanto, acentuada influência do ambiente, podendo os microrganismos ou seus processos serem inibidos em até 100% por diversos fatores estressantes (Quadro 10). Devido à elevada diversidade fisiológica, ecológica e funcional, as populações podem se recuperar do impacto (Domsch et al. 1983). Alterações nas condições do solo, provocadas pelo seu uso e manejo, promovem modificações qualitativas e quantitativas, levando a comunidade a novo equilíbrio (Srivastava & Singh 1991, Dick 1992, Dick & Tabatabai 1992, Wardle 1992, Wood & Edwards 1992). Resumidamente, os tratamentos de solo que exercem maior impacto sobre a microbiota são:

Quadro 9. Duração do impacto da perturbação ambiental nos microrganismos e processos biológicos (Sims 1989).

Causa do impacto	Duração prevista
Desmatamento	Até 300 anos
Mineração	50 a 100 anos
Derramamento de petróleo	> 10 anos
Deposição de xisto betuminoso	2 a 16 semanas
Derramamento de piridina (refinarias)	3 a 4 semanas

- a) adição de carbono orgânico na forma de esterco, adubo verde, compostos e resíduos orgânicos diversos;
- b) modificações físicas resultantes do uso da terra, como aração, gradagem, inundação, drenagem, irrigação, remoção da camada arável pela erosão ou construção civil;
- c) aplicação ou deposição de xenobióticos tóxicos, uso de agroquímicos e deposição de metais pesados;
- d) desinfestação, fumigação e esterilização do solo;
- e) desidratação, solarização, resfriamento e congelamento do solo.

A densidade e a atividade microbianas são, portanto, extremamente variáveis em tempo e espaço, sendo favorecidas pela:

- a) manutenção da cobertura vegetal e crescimento perene de raízes;
- b) retorno e incorporação dos restos culturais e resíduos orgânicos;
- c) manutenção da diversidade de plantas;
- d) redução nas práticas de uso e manejo que provocam distúrbios no solo;
- e) melhoria no condicionamento físico e químico do solo;
- f) inoculações com microrganismos desejáveis e eliminação de microrganismos antagonistas.

Quadro 10. Impacto de certos fatores ambientais estressantes nos microrganismos e processos selecionados (Domsch et al. 1983).

Variável ambiental	Resposta	Inibição (%)
Temperatura < 0 e > 60° C	População e processos	40-100
Inundação	População e processos	48-98
Redução de O ₂ no solo	População e processos	28-100
Drenagem	Desnitrificadores	55-90
Erosão	Nitrificação	66-93
Compactação	Nitrificação	50-75
Predadores (protozoários, ácaros, colêmbolas)	Bactérias e fungos	6-99
Inibidores naturais diversos	População e nitrificação	9-99
Taninos (várias fontes)	Decomposição, nitrificação	3-32
Pesticidas diversos	Processos e organismos	Até 100%

2.4. Atividade biológica e massa microbiana

A atividade biológica do solo inclui todas as reações metabólicas celulares (Figura 2), suas interações e seus processos bioquímicos mediados ou conduzidos pelos organismos do solo, podendo ser avaliada através de vários parâmetros, conforme listados no Quadro 11 e discutidos em Waid (1984) e Nannipieri et al. (1990). Embora os organismos e processos biológicos sejam bons indicadores da qualidade do solo (Visser & Parkinson 1992), é ainda difícil estabelecer relações entre índices de atividade e potencial produtivo do solo (Waksman 1927, Alexander 1964). Porém, como esses parâmetros são indicadores sensíveis da atividade biológica do solo, eles podem ser empregados no monitoramento de alterações ambientais do sistema solo-planta-atmosfera.

A atividade dos microrganismos é sempre avaliada em termos metabólicos (Quadro 11). Nas avaliações da atividade é preciso ter em conta que algumas enzimas (como a urease) são constitutivas (controladas por propriedades inatas das células), enquanto outras são adaptativas ou induzidas, impostas às células pelas condições ambientais, sendo portanto formadas na presença de substrato ou outro fator indutor (Vancura & Kunc 1988, Paul & Clark 1989). A celulase, por exemplo, é produzida na presença de celulose, enquanto a desidrogenase é constitutiva, sendo por isso muito utilizada para medir a "atividade" de populações de microrganismos. Nas estimativas das enzimas do solo, que são proteínas, deve-se considerar que elas interagem com os colóides orgânicos e inorgânicos do solo, podendo não indicar precisamente sua origem (Burns 1986, Dick & Tabatabai 1992).

Quadro 11. Parâmetros usados na avaliação da atividade biológica do solo (Waid 1984, Nannipieri et al. 1990).

-
- 1 - Taxa de respiração (consumo de O₂, emissão de CO₂)
 - 2 - Produção de ATP/adenilatos
 - 3 - Produção e liberação de calor
 - 4 - Biossíntese de macromoléculas (ácidos nucleicos)
 - 5 - Transformações específicas (p.ex.: amonificação)
 - 6 - Consumo de substrato ou acúmulo de produto
 - 7 - Atividade enzimica total e específica
 - 8 - Taxa de mineralização de N, P e S
 - 9 - Dinâmica da matéria orgânica e do húmus
 - 10 - Densidade populacional e biomassa
 - 11 - Reações bioquímicas específicas
 - 12 - Observações microscópicas *in situ*
-

Os microrganismos são responsáveis direta ou indiretamente por processos microbiológicos e bioquímicos diversos, os quais exercem enorme influência na produtividade e sustentabilidade dos ecossistemas terrestres (Alexander 1964, Siqueira 1988, Cardoso et al. 1992, Sanginga et al. 1992, Wardle 1992). Esses processos podem ser divididos em relações biológicas (Burr & Caesar 1984, Ingham et al. 1985, Mitchell & Nakas 1986, Nakas & Hagedorn 1990, Lussenhop 1992) e processos bioquímicos (Siqueira & Franco 1988) (Quadros 12 e 13), todos de grande complexidade e interesse econômico e ambiental. Aspectos da ecologia e do manejo dos microrganismos e seus processos em relação à produção agrícola são discutidos por Siqueira (1993a) e acham-se ilustrados na Figura 3.

Quadro 12. Relações biológicas entre os organismos do solo (Siqueira & Frando 1988).

Principais relações	Principais aspectos ecológicos e funcionais
Interação dos microrganismos (competição, antibiose e predação)	Interfere na decomposição, mineralização da matéria orgânica e dos xenobióticos do solo Determina sucesso ou falha da inoculação Determina o equilíbrio biológico do solo Controla ou evita surto de doenças
Interação de microrganismos e fauna do solo	Interfere na decomposição, mineralização da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes
Interação de microrganismos e raízes	Rizosfera é o ambiente ideal para os microrganismos do solo Influi na disponibilidade e absorção de nutrientes (micorrizas e FBN) Estimula a produção de substâncias reguladoras do crescimento vegetal Atua na sanidade das plantas
Relações patogênicas e parasíticas com as raízes	Provoca grandes perdas na produção Inviabiliza o cultivo em áreas infectadas Controle difícil; exige tratamentos drásticos
Relações simbióticas mutualistas com as raízes (micorrizas e nodulações)	Favorece a nutrição e produção das plantas Redução da necessidade de insumos Atua na ciclagem dos nutrientes Reduz os danos causados por estresses bióticos (pragas e doenças) e abióticos Reduz o impacto adverso da agricultura intensiva no meio ambiente

Quadro 13. Principais processos bioquímicos no solo (Siqueira & Franco 1988).

Processos bioquímico	Aspectos mais relevantes
Decomposição de matérias orgânicas	Evita acúmulo na superfície e no solo Libera CO ₂ na atmosfera e controla a dinâmica do carbono na Terra Pode causar eutroficação das águas, anoxia no solo e contribuir para o efeito estufa Controla o fluxo de energia e nutrientes no sistema solo-planta Libera substâncias tóxicas Promove a formação do húmus
Mineralização de compostos orgânicos	Controla a disponibilidade para as plantas e o fluxo de nutrientes no planeta (ciclagem) Pode contribuir para a poluição da atmosfera e dos mananciais Promove o empobrecimento do solo
Transformações inorgânicas de N e S (amonificação, nitrificação, desnitrificação oxidação do S e redução do SO ₄)	Controla a disponibilidade e permanência destes elementos no solo Promove perdas para a atmosfera e para o lençol freático, contribuindo para a poluição ambiental Promove alterações químicas no solo (p.ex.: pH)
Transformações de elementos metálicos (oxi-redução e solubilização)	Controla a solubilidade e mobilidade dos elementos Facilita a perda do solo e a contaminação das águas Facilita o acúmulo de CH ₄ , CO ₂ e substâncias tóxicas e poluentes
Produção de metabólitos diversos	Substâncias reguladoras do crescimento vegetal (hormônios e alelopáticos) Substâncias solubilizantes, quelantes e complexantes (sideróforos, ácidos orgânicos) Agentes de aderência, cimentação e agregação do solo Metabólitos carcinogênicos e poluentes
Degradação de compostos xenobióticos (p.ex.: pesticidas)	Promove a detoxificação e degradação de pesticidas e outros materiais Diminui o acúmulo destes compostos no ambiente, nos alimentos e na cadeia alimentar
Alterações nas características físicas do solo (agregação, estabilidade dos agregados, porosidade e retenção d'água)	Melhoria da agregação, favorece a aeração, retenção de água, desenvolvimento das raízes e diminui a erosão Provoca obstrução de poros, repelência de água; reduz a permeabilidade, retenção d'água; favorece a erosão

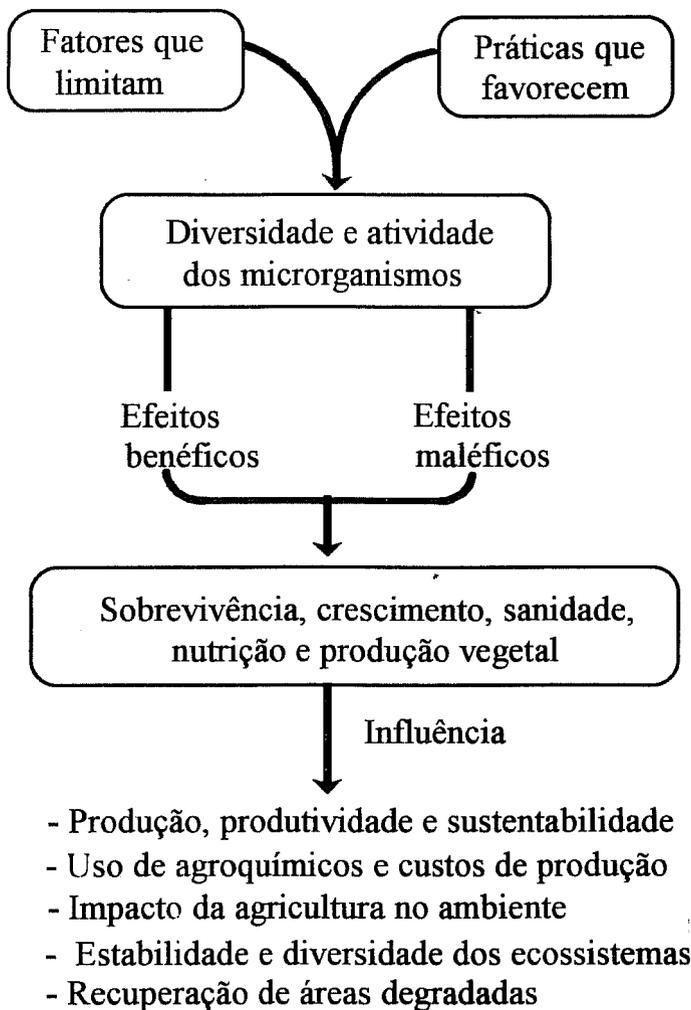


Figura 3. Ecologia e efeitos dos microrganismos na produção agrícola (Siqueira 1993b).

Qualquer política conservacionista deve ter visão holística do ecossistema e considerar não apenas os aspectos da ocupação territorial, mas também a adoção de sistemas de produção que sejam sustentáveis, nos quais os processos biológicos do solo, como a decomposição da matéria orgânica, a ciclagem de nutrientes e as

simbioses radiculares e outros (Sanginga et al. 1992), sejam levados em consideração.

Matéria orgânica e heterotrofia no solo

A matéria orgânica do solo (MOS) é composta de resíduos provenientes da fitomassa e zoomassa que constituem a biota de determinado ecossistema e da massa microbiana originada da decomposição destes resíduos.

A depender do ecossistema, ou seja, das condições de clima e solo, a cobertura vegetal desempenha papel fundamental no tipo e na quantidade da MOS. A produtividade primária líquida, a fitomassa e a quantidade de carbono no solo, em alguns ecossistemas mundiais, encontram-se no Quadro 14. Nas florestas tropicais, a queda de folhas anual está entre 5,5 e 15,3 t/ha, enquanto nas regiões temperadas está entre 2,9 e 8,1 t/ha (Williams & Gray 1974). Em termos de quantidade de carbono, as regiões tropicais e temperadas têm respectivamente produção de 19 t/ha e 12 t/ha (Paul & Clark 1989).

A deposição de carbono nos agrossistemas é bem menor, varia de 1 a mais de 10 t/ha/ano (Quadro 15). Os principais constituintes da MOS, como porcentagem da matéria seca total, são: celulose (10 a 22); hemicelulose (10 a 19), lignina (5 a 8) e proteína (2 a 15) (Williams & Gray 1974). Paul & Clark (1989) apresentam valores mais elevados de celulose (15 a 60), hemicelulose (10 a 30) e lignina (5 a 30). A MOS apresenta ainda outros constituintes, como amido, lipídios, substâncias húmicas, compostos aromáticos de pequena cadeia e outros constituintes menores.

Quadro 14. Quantidade de carbono, taxa de reciclagem (anos) e demanda de C e N requeridas para a manutenção da massa microbiana do solo em diferentes ecossistemas (Smith & Paul 1990).

Variáveis	Floresta		Savana	Tundra
	Tropical	Temperada		
Biomassa vegetal (Gt)	460,00	175,0	27,00	2,00
Produção líquida C (Gt/ano)	20,40	6,7	4,70	0,50
Carbono no solo (Gt)	340,00	113,0	81,00	174,00
Reciclagem do C (anos)	0,14	0,6	0,34	0,54
Reciclagem do N (anos)	0,13	1,0	0,72	0,50
C-manutenção (Gt/ano)	7,50	8,5	5,50	1,00
N-manutenção (Gt/ano)	0,60	0,7	0,40	0,10

A deposição de material orgânico no solo, via queda da fitomassa morta, rizodeposição e translocação em sistemas biotróficos, representa o principal fluxo de energia e nutrientes para o solo (Figura 4). Através das atividades heterotróficas das raízes e dos microrganismos, o carbono é oxidado no solo e liberado para a atmosfera na forma de CO₂ e a conseqüente mineralização da matéria orgânica libera os nutrientes para o solo. Os principais aspectos relacionados à origem, à quantidade e aos efeitos da MOS no sistema solo-planta-organismo encontram-se na Figura 5.

Aspectos da composição química e da decomposição da MOS são considerados a seguir.

a) **Celulose** - É o polissacarídeo de maior ocorrência natural e representa cerca de 1/3 de todo o CO₂ fixado pelas plantas. A celulose é formada por cadeias de unidades de glicose, ligando-se ao C-4 da unidade seguinte por uma ligação de glicosídeo ou ligação β-1,4. É insolúvel em água (devido em parte ao seu alto peso molecular) e não tem sabor. É o principal componente dos vegetais, constituindo, por exemplo, quase 100% do algodão. A decomposição da celulose no solo ocorre por ação de enzimas (celulases) produzidas por muitas bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptomyces*, *Cytophaga*, *Vibrio*, *Polyangium*, *Cellulomonas*, *Streptomyces* e *Nocardia* e por fungos dos gêneros *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Phoma* (Paul & Clark 1989).

Quadro 15. Reciclagem de carbono e nitrogênio em diferentes ecossistemas (extraído de Paul & Clark 1989).

Determinações	Inglaterra	Canadá	Brasil
	Trigo (130 anos)	Trigo (rotação)	Cana-de-açúcar
Peso total de solo (t/ha)	2.200	2.700	2.400
Carbono orgânico no solo (t/ha)	26	65	26
Adição de carbono (t/ha)	1,2	1,6	13
Reciclagem de carbono (anos)	22	40	2
Carbono da biomassa (kg/ha)	570	1.600	460
Nitrogênio da biomassa (kg/ha)	95	300	84
Reciclagem da biomassa (anos)	2,5	6,8	0,24
Fluxo de N na biomassa (kg/ha/ano)	34	53	350
Remoção de N pela cultura(kg/ha/ano)	24	40	220

MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO (MOS):

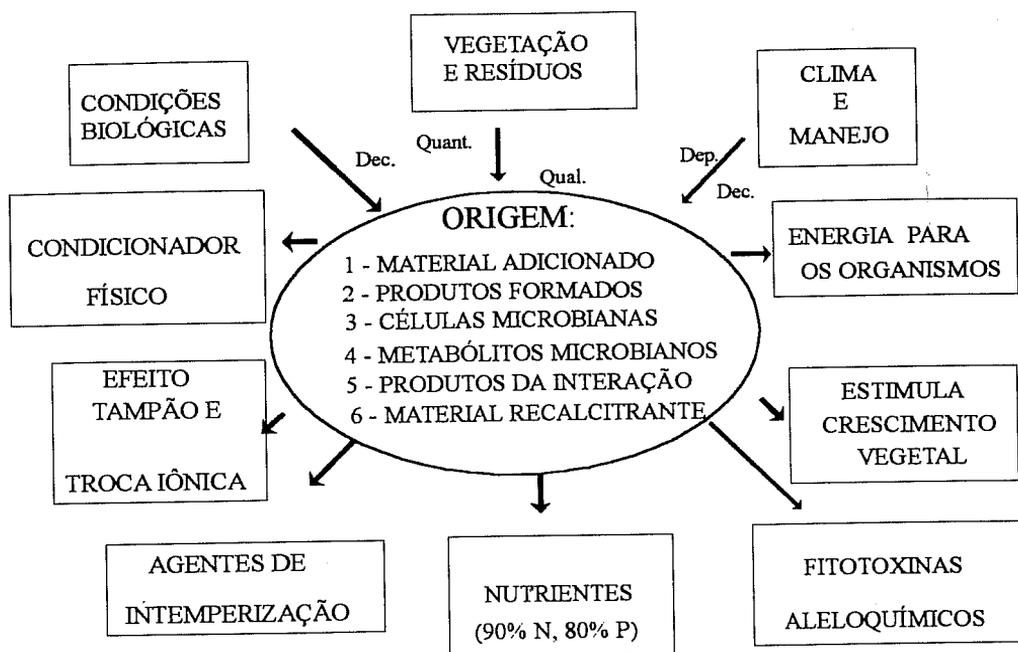


Figura 4. Origem, composição e efeitos da matéria orgânica do solo (MOS). As abreviações se referem a: Dec. (decomposição), Dep. (deposição), Quant. (quantidade), Qual. (qualidade).

O microrganismo celulolítico, ao atacar a celulose, cliva sua molécula de alto peso molecular, desdobrando-a em celobiose (um dissacarídeo, com glicose ligada à glicose) e glicose livre, pela ação da celobiase (Paul & Clark 1989). 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 externamente as celulasas, pois promove a digestão da celulose por contato da membrana celular com as fibrilas de celulose; bactérias *Clostridium*, por sua vez, fazem a decomposição da celulose anaerobicamente (Paul & Clark 1989). Nos solos úmidos, os fungos são os microrganismos predominantes que decompõem a celulose, ao passo que nos solos de regiões semi-áridas, as bactérias são dominantes. Outros fatores físicos e químicos, além da água, como pH, temperatura e oxigênio, afetam a decomposição da celulose. Em pH 5,5 ou menor, há predominância de fungos, enquanto bactérias do gênero *Cytophaga* predominam em pH 5,7 a 6,2; em pH neutro a alcalino proliferam bactérias *Vibrio* e fungos (Atlas & Bartha 1981). Em temperatura elevada, a bactéria celulolítica, termofílica, anaeróbia *Clostridium thermocellum* é importante na compostagem de material com grande quantidade de celulose (Atlas & Bartha 1981).

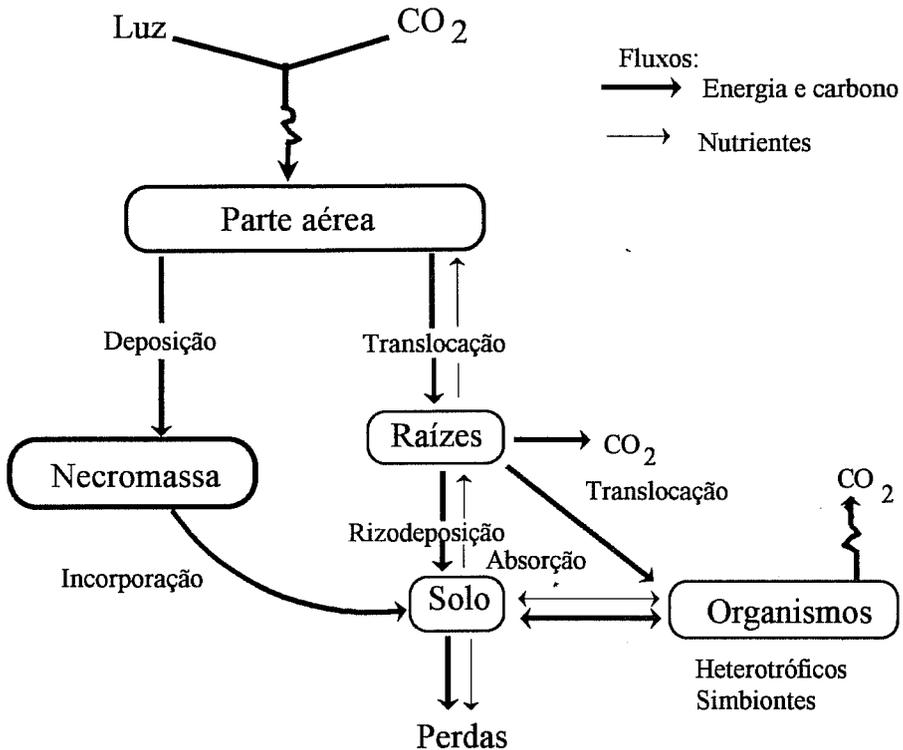


Figura 5. Fluxo de energia, carbono e nutrientes no sistema solo-planta-organismos (Siqueira 1993a).

b) Hemicelulose - A hemicelulose, segundo maior componente dos vegetais, não tem semelhança estrutural com a celulose. É um polissacarídeo constituído por arranjos de pentoses (como a xilose e a arabinose), hexoses (como a manose, glicose e galactose) e, algumas vezes, por ácidos urônicos (como o glucurônico e o galacturônico). Exemplos de hemicelulose são as xilanas, mananas e galactanas. A pectina, um componente importante da lamela média da parede celular das plantas, confere uma consistência gelatinosa à rígida matriz de celulose associada à hemicelulose.

A decomposição da hemicelulose pode ser dificultada quando ela se liga a outras substâncias, como fibrilas de hemicelulose, que formam pontes de hidrogênio com fibras de celulose na matriz da parede celular vegetal. Muitas enzimas são envolvidas na sua degradação, produzidas por fungos (que parecem iniciar o ataque) e bactérias, sendo os Actinomicetos os que exercem ação mais prolongada. Bactérias

do gênero *Bacillus* degradam xilanas. Três enzimas - protopectinase, pectina metil-esterase e poligalacturonase - atuam na degradação de substâncias pécicas (protopectina, pectina e ácido péctico) e são produzidas por bactérias dos gêneros *Erwinia*, *Clostridium*, *Pseudomonas* e *Bacillus* (Gray & Williams 1971). Alguns fungos patogênicos, responsáveis pela murcha e decomposição de vegetais armazenados, também produzem estas enzimas (Gray & Williams 1971a).

c) Lignina - A lignina é outro polímero natural muito importante, responsável por 25% da fitomassa seca produzida anualmente na biosfera (Reddy 1984). Sua importância deve-se também ao fato de que este polímero é recalcitrante, devido ao seu alto peso molecular e à estrutura tridimensional. A estrutura aromática da lignina, com repetição de subunidades aromáticas derivadas do fenilpropano, interligadas por C-C ou éter, contribuem para sua recalcitrância.

A lignina, em materiais ligno-celulósicos, protege a celulose e a hemicelulose das enzimas que digerem os polissacarídeos. Sua decomposição no solo se dá a partir da ação de grupos especializados de fungos. Esses fungos são espécies de Basidiomicetos e algumas de Ascomicetos. Dentre os mais eficientes e mais estudados, destacam-se: *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete versicolor* e o *P. chrysosporium*, sendo este último exemplo típico de decompositor da lignina (Reddy 1984); estes degradam tanto a lignina como a celulose, requisitando para isso a presença de O₂. Os fungos que causam a podridão-parda, que se diferenciam dos fungos 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 (Reddy 1984). Ao atacar polissacarídeos associados à lignina, removem o CH₃ e as cadeias laterais R-O-CH₃ da lignina, deixando os fenóis que ao se oxidarem tornam-se marrons (ou pardos). Entre os fungos da podridão-parda, destacam-se *Poria coeue*, *Gloeophyllum trabeum* e *Lenzites trabea* (Reddy 1984). Os fungos da podridão-mole são tanto Ascomicetos como Fungos Imperfeitos, citando-se como gêneros principais *Graphium*, *Monodictys*, *Allescheria*, *Paecilomyces*, *Papulospora* e *Thielevia* (Reddy 1984). Há evidências de que bactérias, como *Bacillus*, *Streptomyces* e *Nocardia*, degradam a ligno-celulose, atribuindo-se também esta ação a outras linhagens de *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, e *Aeromonas*. Algumas bactérias aeróbias, como *Azotobacter* e *Pseudomonas*, reduzem o peso molecular da lignina (Paul & Clark 1989).

Os fatores abióticos importantes na decomposição da lignina são o O₂ e pH 4 a 4,5. Käärik (1974) cita trabalhos que demonstram a ação e a competição de Basidiomicetos na mudança de pH da madeira em decomposição. Umidade (entre 60 e 100%), temperatura (25 a 30°C) e a relação C:N (de aproximadamente 25:1) são também importantes nesse processo (Käärik 1974, Reddy 1984).

Experimentos com ^{14}C mostraram que muito pouco carbono da lignina é incorporado à biomassa dos microrganismos do solo (Paul & Clark 1989). Poucos compostos originados da degradação da lignina têm sido detectados no solo, como por exemplo o álcool coniferílico, assim chamado porque também existe na seiva de coníferas, e os ácidos ferrúlico, vanílico e caféico, todos com estruturas similares às subunidades da lignina; no entanto, a complexidade da atividade ligninolítica e os seus inúmeros processos bioquímicos vêm demonstrando múltiplas possibilidades de obtenção de compostos a partir da biodegradação da lignina (Reddy 1984). Ainda, segundo este autor, espera-se obter, por fusão de protoplastos e outras técnicas de engenharia genética, mutantes eficientes na biodegradação da lignina.

Outros compostos provenientes da fitomassa, como amido, lipídios, quitinas e proteínas, decompõem-se no solo pela ação microbiana, sendo importantes na biogeociclagem. O amido é uma mistura de dois polímeros de glicose: amilose e amilopectina. É um dos mais importantes compostos de reserva nas plantas e sua decomposição no solo tem sido pouco estudada. Poucos microrganismos parecem estar aptos a degradar o amido e produzir ácidos orgânicos, CO_2 e dextrinas. Os lipídios produzidos pelas plantas e animais são ésteres complexos de ácidos graxos e álcoois. Embora pouco se conheça da degradação dos lipídios, sabe-se que bactérias, principalmente, atacam gorduras e ceras. A cutina, lipídio que se assemelha à celulose por sua longa cadeia, e a pectina podem ser atacadas por leveduras, bactérias (*Azotobacter*) e fungos (*Penicillium spinulosum*) (Gray & Williams 1971a). A quitina é um importante componente do exoesqueleto de artrópodes, da parede celular de fungos, algumas algas e de ovos de nematóides. A quitina assemelha-se à celulose por sua longa cadeia, diferindo por constituir-se de glicosamina, que é um açúcar aminado; sua decomposição no solo, por fungos e bactérias, resulta em glicose e amônia, que 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.

As proteínas são os componentes dos seres vivos com maior teor de N. No solo estão associadas a taninos ou à lignina, o que aumenta a resistência destas substâncias à decomposição. A queratina, principal componente de peles, penas, pêlos e garras de animais, é um exemplo de proteína fibrosa, que é resistente à degradação graças à existência de ligações de dissulfeto entre moléculas de cisteína. São citados, na literatura, fungos queratinofílicos capazes de degradar a queratina (Gray & Williams 1971a). Exoenzimas proteolíticas possibilitam a ação dos microrganismos na decomposição de proteínas.

A decomposição da MOS é muito complexa e, por isso, modelos matemáticos têm sido propostos para estudar sua dinâmica. Utilizando-se desses modelos, Jenkinson & Rayner (1977) separaram a MOS em vários componentes em função da

sua estabilidade química e determinaram a meia-vida (tempo necessário para que a função estudada caia à metade) de cada fração, como segue:

- a) material vegetal decomponível - meia-vida de 0,16 ano;
- b) biomassa microbiana - meia-vida de 1,69 ano;
- c) material vegetal resistente - meia-vida de 2,31 anos;
- d) matéria orgânica estabilizada fisicamente - meia-vida de 49-50 anos;
- e) matéria orgânica estabilizada quimicamente - meia-vida de 1980 anos;
- f) húmus em solos alofânicos - meia-vida de dois a cinco mil anos.

A atividade biológica do solo, dominada por microrganismos decompositores, o transforma em grande incinerador biológico, capaz de decompor, através da ação enzimática, os componentes da MOS e outros compostos orgânicos depositados no solo, resultando em compostos mais simples (Quadro 16). Estes compostos são absorvidos e mineralizados pela microbiota, transformando-se em biomassa e húmus, com liberação de CO₂ e dos nutrientes minerais. Desse modo, a velocidade com que um resíduo é decomposto no solo depende da sua constituição química e das condições ambientais (Coleman et al. 1989).

O resíduo da decomposição e as transformações das matérias orgânicas no solo dão origem ao húmus (Figura 6). O húmus não é uma entidade química definida, pois na realidade é uma mistura de substâncias em material amorfo, que é originado da necromassa parcialmente decomposta e da síntese microbiana no solo (Stevenson 1986). No húmus há uma pequena fração de substâncias orgânicas hidrossolúveis (açúcares, aminoácidos) e uma parte maior de material insolúvel, de cor escura (ácidos húmico e fúlvico, e humina) (Figura 7). O ácido húmico, variável de solo para solo, é resistente à decomposição e provém da polimerização de ligninas, proteínas e metabólitos vegetais e animais. O ácido fúlvico contém proteína e carboidrato, de menor peso molecular e maior proporção de O:C do que o ácido húmico. O peso molecular desses ácidos vai de 700 a 300.000. A humina é constituída por uma forte e complexa ligação dos ácidos húmico e fúlvico ao material mineral do solo. O húmus representa uma fração da MOS e exerce função essencial na sustentabilidade do solo e do ecossistema, através de seus inúmeros efeitos benéficos (Quadro 17), sendo inclusive empregado em formulações comerciais dos chamados bioestimulantes orgânicos (Russo & Berlyn 1990).

Quadro 16. Principais componentes da fração orgânica do solo, enzimas responsáveis pela degradação e os produtos (Burns 1983).

Componentes	Enzimas	Principais produtos
Celulose Hemicelulose	Celulase, glicosidases Hemicelulases	Ácidos orgânicos, açúcares e ácidos urânicos
Amido	Amilases, glicosidases	Glicose, maltose
Pectina	Pectinametilesterase Galacturonase	Ácido pécico, etanol, ácido galacturânico, glicose, arabinose
Quitina	Quitinase, quitinobiase	Glicosamina, ácido acético, glicose, NH ₃
Ácidos nucléicos	Nucleases, nucleoseidase, nucleotidase, amino-hidrolase	Bases nitrogenadas, PO ₄ ³⁻
Proteínas e peptídeos	Proteinase, peptidase, desidrogenases e oxidases	Aminoácidos, ácidos orgânicos, NH ₃
Ésteres fosfatados	Fosfatases, fitases	Álcool, inositol, HPO ₄ ²⁻
Ésteres sulfatados	Arilsulfatase	Álcool e SO ₄ ²⁻
Lignina	Fenoxidase, lactase, peroxidase	Ácidos aromáticos, compostos fenólicos

Quadro 17. Principais efeitos do húmus no solo e na planta.

- ♦ Melhora as condições físicas, como agregação, aeração, retenção de umidade e permeabilidade do solo
- ♦ Aumenta a superfície específica, a CTC e o efeito tampão
- ♦ Atua como agente de complexação, quelação e retenção de nutrientes e xenobióticos
- ♦ Exerce efeitos fisiológicos, como permeabilidade das membranas, absorção de nutrientes, atividade enzimica e fotossíntese
- ♦ Exerce ação protetora e atua como fonte de nutrientes para os microrganismos
- ♦ Atua como reservatório de N, P, S e micronutrientes

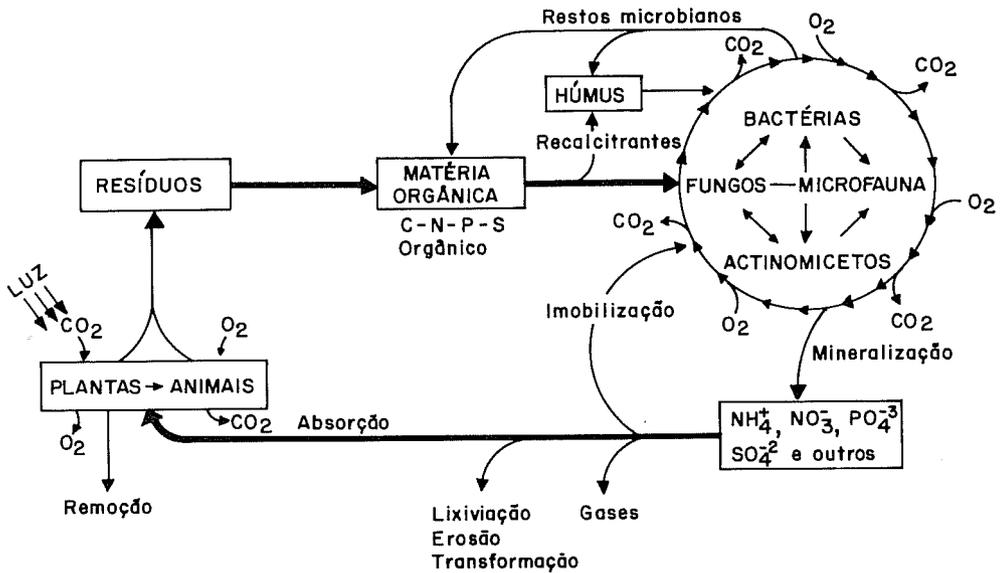


Figura 6. Ciclagem do C, N, P e S na matéria orgânica das substâncias húmicas no solo (Siqueira 1988)

Microbiomassa

A massa microbiana (BM) é parte viva da MOS e representa importante compartimento (ou "pool") de armazenamento de carbono e nutrientes no solo de agro e ecossistemas os mais diversos (Singh et al. 1989, Wardle 1992). Ela é o primeiro estágio do carbono em decomposição no solo e ótimo indicador da "qualidade" do solo, podendo atuar como fonte e dreno de nutrientes através da mineralização e imobilização. Embora a BM represente apenas de 1 a 3 % do carbono orgânico do solo (Jenkinson & Ladd 1981), ela contém, além de outros nutrientes, de 2 a 5% de C, 1 a 5% de N, 2 a 19% de P e 2 a 3% de S orgânico do solo; em um solo arável há (kg/ha): C = 700, N= 108, P = 83, K = 70, Ca = 11 e S = 15 (Anderson & Domsch 1978a).

Os principais fatores físicos e químicos que influenciam a BM são discutidos em Wardle (1992) e Wardle & Hungria (1994). A incorporação de resíduos orgânicos ao solo aumenta sensivelmente a BM (Powlson et al. 1987, Andrade et al. 1993a), e o desmatamento reduz a BM em mais de 50% (Basu & Behera 1993, Pfenning et al. 1992).

A avaliação da BM é útil para: a) prover informações rápidas sobre mudanças nas propriedades orgânicas do solo; b) detectar mudanças causadas por cultivos ou por devastação de florestas; c) regenerar solos após a remoção da camada superficial; e e) avaliar os efeitos da poluição com metais pesados e pesticidas (Powlson et al. 1987).

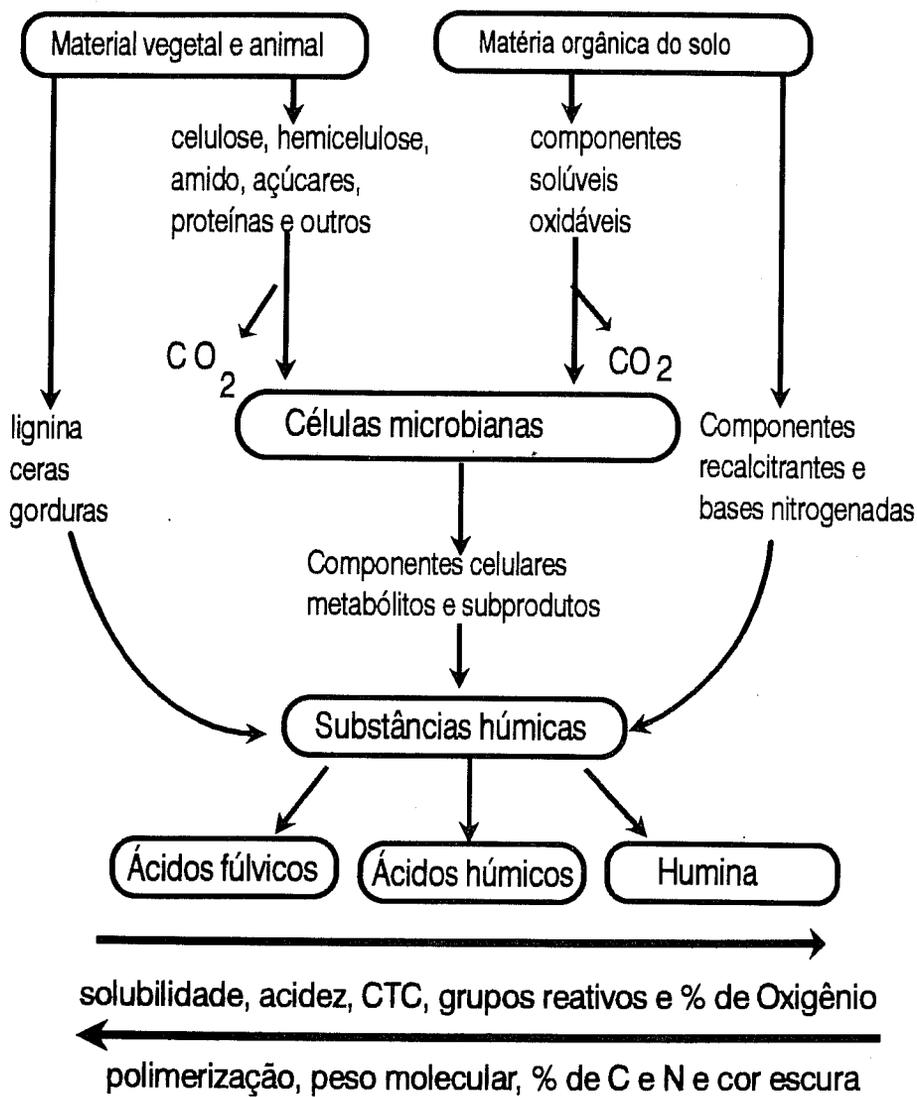


Figura 7. Formação, principais tipos e características das substâncias húmicas no solo (Siqueira 1993a).

Deve-se, porém, distinguir biomassa e da sua atividade. Parkinson et al. (1971) distinguem a "atividade real" das populações microbianas, que pode ser avaliada quando, por exemplo, se aplica o método de fumigação-incubação (FI) (Jenkinson & Powlson 1976) em amostras intactas do solo (Lynch & Panting, 1981), da "atividade potencial", quando se aplica o método FI em amostras perturbadas ou o método de medição da taxa de respiração em resposta à adição de substrato (Anderson & Domsch 1978b). Neste último caso, é possível medir distintamente a biomassa de fungo adicionando-se sulfato de estreptomicina, e a de bactérias adicionando-se ciclohexamida. Beare et al. (1991) obtiveram correlações positivas e significativas com o método de determinação do biovolume, em que a biomassa é igual ao número de células x densidade x volume (Grisi & Gray 1985). A atividade potencial poderá ser avaliada também por outros métodos, como os de extração de constituintes celulares (ATP, ácidos nucléicos, ácido diaminopimélico, etc.). Mais detalhes e comparações dos métodos podem ser obtidas em Grisi & Gray (1986), Zagal (1993), Ritz et al. (1994) e Wardle (1994).

O método de fumigação-incubação (FI) introduzido por Jenkinson & Powlson (1976) e sua recente variável, introduzida por Vance et al. (1987c), o de fumigação-extração (FE), são bastante utilizados na avaliação da biomassa microbiana do solo. As medições de biomassa pelo método de fumigação são limitadas pela dificuldade de saber precisamente qual o "controle adequado", para daí calcular a quantidade real de C-CO₂ (carbono de dióxido de carbono) mineralizado e proveniente da população microbiana morta pelo CHCl₃. Por isso, a fórmula geral é do tipo: $B = X - x/kC$, onde X = biomassa das amostras de solo fumigadas; x = biomassa das amostras não-fumigadas; e kC = fator de mineralização do C (que é 0,41 à temperatura de 22°C e 0,45 a 25°C).

Existem limitações ao método FI, e as mais comuns se referem a solos ácidos com elevado teor de Al e àqueles que receberam adição recente de substrato orgânico (Sampaio & Salcedo 1982a,b, Grisi & Gray 1986, Chapman 1987, Vance et al. 1987a,b, Diaz-Raviña et al. 1988, Grisi 1988). Vance et al. (1987a) sugeriram também que as populações microbianas inoculadas nas amostras fumigadas não são capazes de metabolizar matéria orgânica não-microbiana tão rapidamente quanto as nativas do solo não-fumigado, o que leva à subestimação da biomassa microbiana. Algumas sugestões metodológicas para diminuir a aplicabilidade do método foram feitas. Wu et al. (1990) propuseram o uso de analisador de carbono (baseado na oxidação de C por ação de raios UV incidentes na solução de persulfato de K, em que o extrato de C extraído pelo K₂SO₄ é misturado a uma solução de hexametáfosfato de Na) e obtiveram aumento de C extraível da biomassa (19,44%). Esse método possibilitou medições de biomassa em 10 solos com pH entre 3,9 e 8,0 (Vance et al. 1987b).

Vários autores observaram correlação positiva e significativa com outros métodos para medir biomassa (Ocio & Brookes 1990), assim como confirmaram sua praticabilidade e precisão em diversos solos e condições experimentais (Wu et al. 1990). O método FE foi usado por Joergensen & Brookes (1990), que obtiveram bons resultados na medição de N de ninidrina, C e N, todos da biomassa microbiana (este aspecto será visto na ciclagem do nitrogênio). Alguns cuidados no uso desse método também foram sugeridos. Couiteaux et al. (1990) concluíram que ele não é confiável em solo encharcado e com alto teor de matéria orgânica, sugerindo que a água poderia ter protegido os protozoários que não foram destruídos pela fumigação. Ross (1992), estimando a biomassa de C e de N em solo de pastagem (coletado no inverno, na Nova Zelândia), encontrou valores elevados em solo peneirado < 2 mm e valores baixos no solo peneirado < 5,5mm.

3. CICLAGEM DOS ELEMENTOS NO SOLO

A ciclagem e disponibilidade de vários elementos químicos exigidos pelas várias formas de vida constituem o alicerce de sustentação da biosfera terrestre e a chave do entendimento da relevância dos processos biológicos no solo (Bolin & Cook 1983, Stevenson 1986). Como o solo e a biota terrestre são componentes-chave dos processos da biosfera, a ciclagem de certos elementos, como C, N, P, S e micronutrientes catiônicos, torna-se de grande interesse (Coleman et al. 1983, Parton et al. 1988) (Figura 6). O estudo dos vários ciclos e suas interações (Hunt et al., 1983) é essencial para planejar o uso correto dos recursos naturais e dos insumos e para promover a sustentabilidade dos ecossistemas terrestres. As relações de sorção, intemperização, decomposição, deposição e absorção que ocorrem estão representadas na Figura 8.

A energia e os nutrientes contidos nos restos vegetais e animais e nos rejeitos urbanos e industriais têm que ser reciclados para manter o equilíbrio na atmosfera. Assim, a energia captada da luz solar via fotossíntese é transferida para o solo, via resíduos orgânicos, onde estes são transformados, devolvendo o CO₂ para a atmosfera e reciclando os elementos minerais, essenciais para as plantas e animais. A transferência de energia e a ciclagem dos diversos elementos nos componentes da biosfera são extremamente complexas. As transformações que contam com a participação de microrganismos do solo e que têm relevância na produção e sustentabilidade agrícola e na qualidade ambiental são apresentadas por Stevenson (1986) e Coleman et al (1983) e resumidas no Quadro 18.

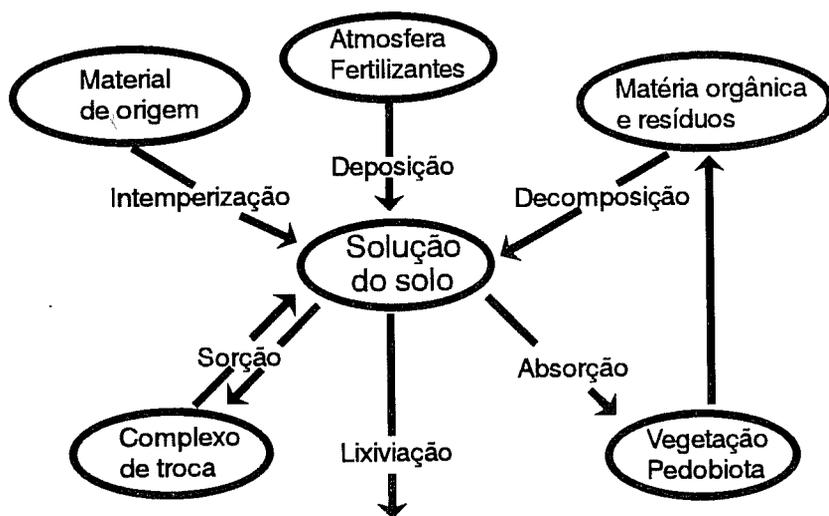


Figura 8. Compartimentalização e processos das transformações dos nutrientes no sistema solo-planta.

Quadro 18. Principais mecanismos e processos biológicos importantes para o ciclo dos elementos no solo (Siqueira 1993b).

Ciclo	Processo	Mecanismo	Importância
C	Fotossíntese Decomposição Mineralização	Incorporação de C e energia Liberação de CO ₂ e nutrientes Concentração CO ₂ na atmosfera	Atividade microbiana no solo Formação de húmus Fertilidade do solo(nutrientes)
N	Amonificação Imobilização Nitrificação Desnitrificação	N-orgânico → NH ₃ NO ₃ ⁻ e NH ₄ ⁺ → N-orgânico NH ₄ ⁺ → NO ₃ ⁻ NO ₃ ⁻ → N ₂ O, N ₂	Aumenta N disponível no solo Reduz N disponível no solo Perdas de N por lixiviação Perdas de N gasoso
P	Mineralização Imobilização Solubilização	P-orgânico → PO ₄ ³⁻ PO ₄ ³⁻ → P-orgânico P insolúvel → PO ₄ ³⁻	Aumenta P disponível no solo Reduz P disponível no solo Aumenta aproveitamento de P
S	Mineralização Oxidação Redução	S-orgânico → SO ₄ ²⁻ SO → SO ₄ ²⁻ SO ₄ ²⁻ , H ₂ S	Aumenta S disponível Provoca acidificação Perda de S e fitotoxicidade
Outros	Oxi-redução Solubilização	Mox → Mred Mox ← Mred	Solubilidade, toxicidade e poluição

3.1. Carbono

Resultados referentes à estimativa dos valores de armazenagem e ao fluxo de carbono na biosfera são bastante variáveis; os valores médios nos diversos compartimentos da biosfera e os principais fluxos do carbono considerados por Sposito & Reginato (1992) encontram-se no Quadro 19, enquanto os valores apresentados por Jenkinson et al. (1991) de C nos solos (C armazenado e entrada de C) podem ser vistos no Quadro 20.

Quadro 19. Valores médios de armazenagem e fluxo de carbono (Sposito & Reginato 1992).

Armazenado	10 ⁹ toneladas (Gt)	Fluxo	10 ⁹ toneladas/ano
Atmosfera	750	Respiração (F) ¹	50
Biosfera terrestre	650	Fóssil (F)	5
Solo e necromassa	1.550	Decomposição (F)	55
Fóssil	4.000	Oceanos (F)	100
Oceanos	38.000	Fotossíntese (D)	110
		Oceanos (D)	110

¹ F: fonte de CO₂ para a atmosfera; D: dreno.

Quadro 20. Estimativas da quantidade armazenada e deposição anual de carbono nos solos do mundo (Jenkinson et al. 1991).

Ecossistema	C armazenado (x 10 ⁹ toneladas)	Depositado (x 10 ⁹ toneladas)
Tundra	191	0,9
Deserto quente	20	0,6
Matas tropicais e savanas	129	11,5
Floresta boreal úmida	49	0,8
Floresta temperada (fria)	43	3,1
Floresta temperada (quente)	61	7,1
Floresta tropical seca	24	1,1
Floresta tropical úmida	60	13,2
Floresta tropical enxarcada	78	15,3
Terras cultivadas	167	10,2
Pântanos	202	-
Total global	1.024	63,8

A quantidade de C presente no solo em determinado momento depende da taxa de sua decomposição nesse solo e, obviamente, da entrada anual de resíduos orgânicos no solo. Em ecossistemas florestais dos trópicos úmidos, por exemplo, o principal reservatório de nutrientes é a fitomassa (parte aérea e raízes), enquanto em florestas de clima temperado é o solo. Os dados do Quadro 20 mostram que os solos dos grandes ecossistemas tropicais têm menor "estoque" de C, mas têm uma entrada deste elemento maior do que os solos dos biomas de certas regiões frias (tundra, estepe temperada e boreal superúmida). Esse "estoque" não muito elevado de C nos solos tropicais, embora estes recebam alta quantidade anual de C, se explicaria, em parte, pela dinâmica do processo de decomposição microbiana (Coleman et al. 1989), que faz com que os solos tropicais tenham biomassa microbiana geralmente inferior à dos solos de região temperada (Grace & Grisi 1992, Wardle & Hungria 1994).

Uma das preocupações atuais sobre o aumento do CO₂ na atmosfera e o conseqüente "aquecimento global", ou efeito estufa, como é conhecido, é com relação à grande responsabilidade da ação antrópica de queima de combustíveis fósseis e de florestas (Woodwell 1990). Segundo dados do IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), o CO₂ na atmosfera aumenta uniformemente 0,5% por ano. Como conseqüência, estima-se que a temperatura também aumentará uniformemente entre 0,2 e 0,5°C por década (ou de 0,02 a 0,05°C por ano). Jenkinson et al. (1991) propuseram um modelo de previsão da liberação de CO₂, em escala global, que corresponde a um certo aumento da temperatura baseada na emissão deste gás a partir de cinco fontes de C no solo: 1) material vegetal facilmente decomponível; 2) material vegetal resistente à decomposição; 3) biomassa microbiana; 4) húmus; e 5) matéria orgânica inerte ao ataque microbiano. Segundo estimativas de Jenkinson et al. (1991), se persistir a taxa atual de emissão de C-CO₂, esta será, ao longo dos próximos 60 anos, de 32.10¹² t, e o C-CO₂ "extra" a ser emanado do solo ao longo desse tempo (como conseqüência do aumento da temperatura de 0,02°C/ano) será cerca de 61.10¹¹ t (=19%).

Os próprios autores desta "previsão", porém, admitem que o modelo poderá estar em erro de até 50%. Esses autores apontam restrições ao modelo: a) não são considerados os solos anaeróbios; b) as perdas pela queima não são deduzidas da produção primária; c) a quantidade de C inerte ao ataque microbiano poderá ser maior, se forem considerados os solos ricos em argila e os mais profundos (no modelo foi considerada a profundidade de 1m); d) o teor de argila considerado de 20% em todos os solos, que liberaria 15,3.10⁹ t/ano (numa floresta tropical o aumento de argila para 30% implicaria decréscimo de C liberado para 14,4.10⁹ t/ano); e) não é considerada a necromassa acumulada na superfície do solo; e f) a relação MOS decomponível: MOS resistente à decomposição constitui dado importante da matéria orgânica de entrada (no modelo), podendo ocorrer erros, se tal

relação for imprecisa. Eles também consideram que é improvável que o aumento de temperatura nas altas latitudes norte cause aumento na atividade microbiana do solo (em janeiro, por exemplo, quando a temperatura é -15°C , um aumento de 10°C não surtiria nenhum efeito sobre a decomposição). É fácil observar a multiplicidade das variáveis que podem interferir nas estimativas e até torná-las estritamente teóricas. Seus próprios autores ainda admitem que na relação entrada de C: taxa de decomposição de MOS seria também necessário estimar os efeitos da concentração cumulativa dos gases responsáveis pelo aquecimento global.

Dados recentes de Joergensen et al. (1990) mostram que a elevação da temperatura de 15 para 35°C aumentou acentuadamente a emissão acumulada de C-CO₂ ao longo de 250 dias de incubação do solo; eles consideram que a maioria do C-CO₂ emanado provinha da decomposição da MOS. Ainda, segundo esses autores, a elevação da temperatura de incubação de 25 para 35°C triplicou a quantidade de C mineralizado, excedendo o previsto na equação de Van't Hoff. Solos da Inglaterra apresentam valores mais elevados de emissão de CO₂ e taxa de mineralização do C de duas a três vezes maior do que solos do Brasil quando a temperatura foi elevada de 15 para 35°C (Grace & Grisi 1992). Ainda, segundo Grace & Grisi (1992), ao final do período de incubação a 35°C , a biomassa dos solos ingleses foi reduzida em 70 a 80%, enquanto a dos solos brasileiros sofreu redução de 40 a 60%. A respiração específica da biomassa (em μg de C-CO₂/g de biomassa de C/dia) foi de duas a três vezes mais rápida nos solos ingleses em temperatura de 15 a 35°C , por todo o período de incubação.

Evidências apontam "maior adaptação" da microbiota dos solos tropicais às temperaturas elevadas e certa "sensibilidade" das populações microbianas dos solos do hemisfério norte ao aumento de temperatura (Joergensen et al. 1990). Supõe-se, assim, que a um aumento de temperatura global da atmosfera, corresponderia maior liberação de C-CO₂ pelos solos das regiões temperadas, onde existe grande quantidade de carbono armazenado. Em termos globais, o C armazenado no solo ($15 \cdot 10^7$ t) representa alto "potencial poluidor", se lançado na atmosfera, cuja quantidade atual estima-se ser de $5 \cdot 10^5$ t.

3.2. Nitrogênio

Os processos biológicos do ciclo do N no solo são apresentados em Stevenson (1982), e os aspectos atuais e futuros mais relevantes do ponto de vista ambiental foram discutidos por Paul (1988) e resumidos no Quadro 21.

O nitrogênio da molécula do óxido nitroso (N₂O) é um elemento que, à semelhança do carbono, exerce ação no aquecimento global e provém basicamente da

transformação de fertilizantes nitrogenados no solo, de dejetos animais, de águas subterrâneas contaminadas com nitrato e também da queima de fitomassa. É importante observar que o nitrito, quando presente na água, combina-se com compostos aminados e transforma-se em nitrosaminas, que são carcinogênicas (Alexander 1973). Apesar de contribuir com menor porcentagem no problema do aquecimento global, sua atividade é, no entanto, cerca de 230 vezes superior à do CO₂; além disso, o N₂O participa da destruição da ozonoesfera e seu aumento anual na atmosfera é da ordem estimada de 0,2% (Miller 1990).

A maior parte do nitrogênio do solo está na forma orgânica, como aminoácidos, ácidos nucléicos, açúcares aminados e formas complexas. Para se tornar disponível para as plantas é necessário que ocorra a amonificação e, posteriormente, a nitrificação. É muito difícil prever a quantidade de N a ser mineralizada, porque o potencial de mineralização do solo depende, além do ambiente, da natureza química da matéria orgânica do solo (MOS), e não somente do seu conteúdo. Apenas o N da fração ativa da MOS pode ser liberado, e a maioria dos estudos indica que de 2 a 4% do N orgânico total do solo é mineralizado por ano (Paul & Clark 1989, Coleman et al. 1989). Um solo de Cerrado, por exemplo, que contém em média 0,09% de N, o que equivale a 2.700 kg/ha na camada de 0-30cm, pode mineralizar de 50 a 100kg de N/ha/ano, o que é suficiente para suprir grande parte das exigências das culturas.

Quadro 21. Impactos ambientais do nitrogênio (Keeney 1982).

Impacto	Agente causador
<u>Qualidade ambiental</u>	
- Eutroficação	N inorgânico e orgânico nas águas
- Camada de O ₃	N ₂ O da nitrificação e desnitrificação
- Outros danos materiais e ao ecossistema	HNO ₃ na precipitação e deposição de sais diversos
<u>Crescimento das plantas</u>	
- Redução no crescimento	Altos níveis de NO ₂ ⁻ e NH ₄ ⁺ no solo
- Crescimento excessivo e qualidade do produto	Excesso de N disponível no meio de crescimento
- Incidência de doenças	Adubação desbalanceada
<u>Saúde animal</u>	
- Perda de animais	Excesso de NO ₃ ⁻ na água e nos alimentos
<u>Saúde humana</u>	
- Metemoglobinemia em crianças	Excesso de NO ₂ ⁻ e NO ₃ ⁻ na água e nos alimentos
- Câncer	Nitrosaminas de NO ₂ ⁻ e aminas secundárias
- Doenças respiratórias	NO ₂ ⁻ , HNO ₃ (vapor), NO ₃ ⁻ aerosol e compostos organo-nítricos

Em estudo conduzido em solo de Cerrado, Coelho (1987) verificou-se que o solo forneceu 54 kg de N durante o ciclo da cultura do milho. Solos agrícolas com menos de 2% de matéria orgânica apresentam deficiência acentuada de N.

A oxidação do NH_4^+ acidifica o solo e ocorre sempre que fertilizantes nitrogenados, amoniacais ou uréia são aplicados ao solo. Isto explica, em parte, o comportamento diferenciado em relação aos efeitos nutricionais, químicos e microbiológicos dos fertilizantes nitrogenados (nitrícos x amoniacais). A amonificação e a nitrificação são favorecidas por boa aeração do solo, temperatura na faixa de 26 a 32°C, umidade próxima à capacidade de campo do solo, pH entre 6,0 e 6,5 e relação C:N menor do que 30. A mobilidade do NO_3^- no solo é grande, e em solos sem vegetação a sua perda deve ser reduzida para evitar danos ambientais, quando atinge o lençol freático, e empobrecimento do solo (Stevenson 1982, 1986). Para controlar isso, pode-se reduzir a solubilidade do fertilizante ou a taxa de nitrificação. A primeira alternativa tem apresentado dificuldades técnicas e a segunda tem sido conseguida através do uso de compostos capazes de inibir a nitrificação. Nos EUA, o uso de "N-serve", um inibidor de nitrificação, comercializado pela Dow Chemical, tem mostrado efeito benéfico na eficiência do uso dos fertilizantes nitrogenados.

A desnitrificação, outro processo importante do ciclo do N, é definida como um processo de respiração anaeróbia, realizada por microrganismos capazes de utilizar NO_3^- ou NO_2^- como receptores finais de elétrons em lugar do oxigênio. Esse processo representa a principal via de retorno do N, na forma de NO e N_2O , para a atmosfera, e os nitrificadores autotróficos, como *Nitrosomonas europae* em solos aeróbios, e os desnitrificadores *Alcaligenes* e *Pseudomonas*, em condições anaeróbias, são os principais contribuintes de N-gases (Anderson et al. 1993). A desnitrificação é responsável pela perda de 25 a 30% do N aplicado via fertilizantes, o que corresponde a 30 a 200 kg/ha/ano de N, dependendo da cultura e das condições do solo (Stevenson 1986). As emissões de N_2O do solo e dos fertilizantes atingem de 6 a 65 e de 6 a 20 Tg/ano, respectivamente (US-EPA 1990).

O destino do N aplicado no solo é bastante imprevisível. Em geral, verifica-se que cerca da metade do N aplicado é absorvido pela cultura, e o restante é imobilizado no solo e perdido por lixiviação e desnitrificação. Vários estudos mostram que 1/3 do N do fertilizante fica retido na MOS, no primeiro ano de cultivo, e que a estabilidade do N na MOS aumenta com seu grau de humificação. A quantidade de N retido na MOS depende, principalmente, da quantidade da biomassa microbiana, que é controlada pelo suprimento de C oxidável do solo. Desse modo, solos com manejo adequado dos restos culturais (com elevado teor de matéria orgânica) apresentam efeitos residuais de N mais elevados, ao contrário daqueles com baixo teor de matéria orgânica, nos quais a quantidade de N na biomassa e na

MOS é pequena. Nos solos sujeitos à inundação, as condições redutoras provocam a perda de N-NO_3^- por desnitrificação, ao contrário do NH_4^+ , que apresenta baixa nitrificação e perdas menores.

Outro processo essencial ao ciclo do N é a fixação biológica do N_2 atmosférico (FBN). Ela pode ser realizada por microrganismos de vida livre e por sistemas simbióticos diversos, e será abordada no subitem 5.1.

A situação das pesquisas e metodologias sobre o N nos agrossistemas foi abordada por Wilson (1988).

3.3. Fósforo

As transformações do fósforo são também muito influenciadas pelos processos bioquímicos, mas seu ciclo é mais simples se comparado com os do N e S. O P orgânico varia de 3 a 90% do P total do solo, ou de 1 a 3% da MOS. De modo geral, o P no solo ocorre na fração mineral. Nos solos minerais, o P-orgânico representa de 20 a 25% do P total e está ligado aos óxidos de Fe e Al, nos solos ácidos, e ao Ca nos solos neutros ou alcalinos. A principal forma de P orgânico encontrado no solo é o fosfato de inositol, que é facilmente mineralizado (Stewart & Tiessen 1987).

Os principais mecanismos de transformação do P no solo envolvem, além da retenção ou fixação, sua liberação ou solubilização da fração de transição (lábil), e mineralização e imobilização biológica pelos microrganismos (Kucey et al. 1989). Como a maior parte do P do solo encontra-se na forma inorgânica, os estudos da sua dinâmica têm sido predominantemente químicos e com pouca ênfase no envolvimento de processos microbiológicos. Sabe-se, porém, que os microrganismos atuam de maneira direta ou indireta no ciclo do P no solo, influenciando a capacidade de fornecimento pelo solo e a absorção pelas raízes, conforme resumido no Quadro 22.

Como acontece com outros nutrientes, o P está sujeito à imobilização e à mineralização no solo, dependendo da relação C:P do resíduo em decomposição; a mineralização do P no solo ocorre simultaneamente com a do C e acompanha a mineralização do 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 com relação C:P muito elevada, superior a 300, ou em resíduo contendo menos que 0,2% de P (Stevenson 1986).

A principal fração de P mineralizável no solo é a biomassa, que contém até 20% do P orgânico do solo. Até a metade desse P pode ser mineralizada por ano. A mineralização é feita pelos microrganismos heterotróficos comuns, que produzem enzimas do tipo fosfatases e fitases, que atacam, respectivamente, ésteres fosfatados e fosfato de inositol (derivado do ácido fitico), liberando PO_4^{3-} na solução.

Quadro 22. Efeitos dos microrganismos na utilização do P do solo pelas plantas (Siqueira & Frando 1988).

Efeitos na utilização	Principais mecanismos
Aumento na absorção	Aumento na área de absorção e na capacidade absorvente das raízes Efeitos fisiológicos na planta
Acessibilidade ao P-lábil	Maior exploração do solo Abaixamento do P em solução Alterações químicas na rizosfera
Mineralização do P	Aumento na disponibilidade do P matéria orgânica e biomassa
Solubilização de fosfatos inorgânicos	Produção de CO ₂ , ácidos diversos e substâncias quelantes e complexantes capazes de liberar o P

Este processo é influenciado pelas condições ambientais e pela mineralogia do solo. Nos solos minerais, a maior parte do P liberado é imediatamente fixada na fração mineral, ficando portanto retida. Desse modo, as perdas de P do solo ocorrem predominantemente pela erosão. Transformações intermediárias ou resultantes da imobilização do P liberado pela mineralização podem contribuir para a fração lábil de P no solo. Ao contrário do que ocorre com o N, é muito pouco provável que o processo mineralização/imobilização resulte em imobilização líquida de P da solução, mas a imobilização de P pode atingir até 10 kg/ha. A adição de matéria orgânica ao solo pode favorecer a decomposição de determinadas frações das substâncias húmicas nativas e liberar P (Stevenson 1986).

A capacidade de os microrganismos solubilizar os fosfatos inorgânicos é conhecida de longa data, e de ocorrência generalizada entre os microrganismos, tanto heterotróficos quanto autotróficos do solo (Goldstein 1986, Nahas 1991). Ela oferece grandes possibilidades biotecnológicas, mas ainda se encontra em escala experimental, embora processos como o "biosuper" encontrem-se em fase avançada de estudo em outros países. Já os microrganismos capazes de mineralizar ou solubilizar fosfatos orgânicos, como o *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum*, conhecidos como "fosfobacterinas", têm sido utilizados como inóculos em solo na Rússia, mas com poucos estudos nos países ocidentais. Os efeitos de outro grupo de microrganismos, os fungos micorrízicos, na translocação de P do solo para as plantas serão abordados adiante.

O P é considerado um recurso natural não renovável, relativamente escasso e sem sucedâneo. Como ele é um macronutriente-chave na produção agrícola, esforços multidisciplinares têm sido feitos no sentido de aumentar a eficiência das rochas fosfatadas, como-matéria prima para a indústria de fertilizantes, bem como a eficiência dos fertilizantes manufaturados aplicados no solo, que é da ordem de apenas 20% no primeiro ano de aplicação nos solos minerais ácidos dos trópicos. A atividade microbiana pode reduzir a fixação do P dos fertilizantes por: a) absorção pelas raízes e imobilização na biomassa microbiana (P-orgânico), diminuindo o P em solução e a fixação; b) produção de substâncias húmicas que competem com os íons H_2PO_4^- por superfície de adsorção e formam uma superfície protetora sobre os sesquióxidos coloidais; e c) formação de complexos do tipo fosfo-humatos pouco estáveis (Stevenson 1986).

Dessa forma, a adição de matéria orgânica ao solo e a adubação verde, além de fornecerem nutrientes e promoverem melhoria nas condições físicas do solo, podem reduzir a fixação de fosfatos e aumentar a eficiência dos fertilizantes aplicados em solos com elevada capacidade de fixação. Melhor entendimento desses mecanismos poderá, em adição às modificações nas práticas agrônômicas e nas tecnologias industriais, contribuir para eficaz utilização do P dos fertilizantes pelas culturas, prolongando, assim, a vida das reservas de fosfatos, cuja exaustão representa uma ameaça à existência humana no planeta.

3.4. Enxofre

A MOS e os restos vegetais são também importantes fontes de enxofre (S). A conversão do S-orgânico a SO_4^{2-} , forma disponível para as plantas, ocorre estritamente através de processos bioquímicos, de maneira semelhante ao que se verifica com o N. O S orgânico do solo ocorre em duas frações distintas. Uma, em que ele está diretamente ligado ao C, principalmente nos aminoácidos, e outra na forma de éster. Ambas sofrem mineralização, produzindo SO_4^{2-} que pode ser imobilizado pelos microrganismos, absorvido pelas raízes, lixiviado ou adsorvido às partículas do solo. Como ocorre com o N, o S sofre mineralização/imobilização, diferindo apenas nos valores das relações C:S que controlam essas transformações, devido à pequena exigência de S pelos microrganismos do solo (Alexander 1977, Stevenson 1986).

Além da mineralização, o S está sujeito a outras importantes transformações no solo, como oxidação e redução. Vários grupos de microrganismos são capazes de fazer a oxidação do S em ácido sulfúrico, sendo as bactérias do gênero *Thiobacillus* as mais comuns. A redução do SO_4^{2-} é um processo semelhante à desnitrificação, feito por bactérias anaeróbias como *Desulfovibrio*. A redução do SO_4^{2-} ocorre em condições altamente redutoras, como na rizosfera, e é indesejável, pois o H_2S

produzido, além de fitotóxico, é poluente atmosférico. Esse processo é pouco intenso nos solos bem drenados, mas rápido e muito importante naqueles sujeitos à inundação.

3.5. Elementos metálicos

A ciclagem de elementos metálicos como K, Ca, Mg e micronutrientes é também influenciada pelos microrganismos (Quadro 23) através de mecanismos indiretos que resultam na decomposição de resíduos orgânicos e mecanismos diretos responsáveis por transformações inorgânicas diversas (Hungria & Urquiaga 1992). Durante o processo de decomposição dos restos orgânicos, grandes quantidades desses elementos são liberadas em forma iônica, pela simples destruição física dos materiais em decomposição (Alexander 1977). Isto ocorre porque eles são formas mono ou divalentes, fortemente ligadas aos compostos orgânicos vegetais e, também, não sofrem reações complexas, como ocorre com N, P e S. Em relação ao K, por exemplo, apenas 1/3 da quantidade encontrada nos restos vegetais requer ataque microbiano para ser liberado, e os restantes 2/3 são prontamente solúveis em água, requerendo apenas transformações físicas para serem liberados para o solo. Mesmo assim, sua disponibilidade pode ser reduzida quando grandes quantidades de C são adicionadas. Entre 2,5 a 5,0 kg de K são assimilados na decomposição de cada tonelada de material orgânico adicionado ao solo (Alexander 1977). Minerais insolúveis com K, Ca e Mg são também solubilizados pelos microrganismos e constituem importante mecanismo pedogenético (intemperismo) e de controle da disponibilidade desses elementos no solo. A solubilização biológica de rochas e minerais é um processo natural na crosta terrestre e no solo (Robert & Berthelin 1986).

Quadro 23. Mecanismos de transformação de elementos minerais por microrganismos do solo (Robert & Berthelin 1986).

Solubilização/liberação	Precipitação/alteração
- Absorção de elementos	Biodegradação de organo-metálicos
- Oxidação de S e NH_4^+	Absorção e adsorção de elementos
- Produção de ácidos orgânicos e complexantes	Reduções de sulfato e sulfito Formação de carbonato
- Ação de redutases sobre metais	Formação de complexos insolúveis Oxidação e formação de óxidos

A microbiota interfere ativamente nas transformações e nos ciclos de vários outros elementos no solo, podendo causar deficiência ou fitotoxicidade de micronutrientes em plantas e problemas ambientais (Olson & Kelly 1986, Stevenson 1986). Alguns aspectos relacionados às transformações de micronutrientes e elementos poluidores no solo serão comentados. A assimilação de micronutrientes pela microbiota não tem conseqüências para as plantas, mas as transformações biológicas sofridas por vários micronutrientes são fatores críticos da sua disponibilidade, especialmente em solos sujeitos ao excesso de umidade. O Fe e o Mn são os elementos mais influenciados pela atividade microbiana, através de reações de oxidação e redução (Hungria & Urquiaga 1992).

A disponibilidade de Zn e outros elementos é também afetada pelos microrganismos, através de seus efeitos sobre o pH, produção de ácidos orgânicos, mineralização da matéria orgânica e oxidação de ZnS pelo *Thiobacillus*. Vários microrganismos isolados do solo são capazes de precipitar e solubilizar o Zn e outros micronutrientes em condições controladas e, certamente, atuam no solo.

As transformações de elementos poluidores como Hg, Pb, As, Cd, Ni e outros são também influenciadas pelos microrganismos do solo. O processo de mineralização dos restos orgânicos com elevados teores desses elementos resulta na sua liberação no solo e pode causar toxicidade nas plantas e poluição ambiental. Vários microrganismos do solo são capazes de provocar a metilação de elementos como o Hg, As, Te e Sb, transformando-os em compostos voláteis altamente venenosos, que representam sérias ameaças à qualidade do meio ambiente e à saúde humana (Alexander 1973, Tyler 1981, Olson & Kelly 1986). O uso de rejeitos urbanos (lixo e esgoto compostados) como adubo orgânico deve ser feito com muita cautela, por causa da presença desses elementos e da possibilidade de contaminações por organismos patogênicos.

3.6. Considerações gerais

Os microrganismos do solo e seus processos influenciam a ciclagem, distribuição e disponibilidade de diversos elementos, interferindo na fertilidade do solo (McGill & Cristie 1983, Melillo & Gosz 1983, citados em Bolin & Cook 1983) e atuando principalmente na MOS e na intemperização do material de origem, através de:

- a) liberação de nutrientes mobilizados nos restos vegetais e outros materiais orgânicos, depositados no solo e na própria matéria orgânica nativa, através da mineralização;
- b) imobilização na biomassa microbiana e em substâncias químicas complexas como o húmus;

- c) produção e excreção de substâncias quelantes e/ou complexantes que atuam na solubilidade e mobilidade de vários elementos no sistema solo-planta;
- d) reações enzimáticas de oxi-redução que controlam a solubilidade de vários compostos ou elementos;
- e) transformações indiretas provocadas por modificações no pH do solo ou na rizosfera;
- f) redução de formas oxidadas de vários nutrientes, em condições de baixa aeração;
- g) produção de ácidos orgânicos e inorgânicos com ação solubilizadora de compostos orgânicos;
- h) transformações bioquímicas específicas como a desnitrificação e redução de fosfato, que resultam na perda de nutrientes na forma gasosa;
- i) produção de compostos tóxicos que poluem o ambiente e representam ameaças à saúde pública e ao crescimento das plantas;
- j) fixação biológica do nitrogênio atmosférico;
- k) formação de micorrizas e outras associações benéficas com as raízes.

Desse modo, as transformações dos nutrientes via MOS representam importante fase do ciclo geoquímico dos elementos e constituem o alicerce da sustentabilidade dos ecossistemas (Bolin & Cook 1983, Coleman et al. 1983). Numa floresta tropical primária encontram-se em torno de 12 t/ha de N e menos de 0,5 t/ha dos demais nutrientes (Klinge 1975). Enquanto a maior parte de N e P encontra-se no solo e húmus, os cátions básicos K, Ca e Mg ocorrem predominantemente na fitomassa. Assim o rompimento do clímax do ecossistema resultará em destruição da vegetação, perdas da MOS (pela decomposição e erosão) e do solo (pela erosão), com o conseqüente empobrecimento, podendo atingir a degradação. Smith & Paul (1990) estimaram em 785, 13, 18 e 14 Gt (Gigaton. = 10^9 t) as quantidades globais de C, N, P e S na biomassa vegetal, respectivamente, com um tempo de reciclagem médio de 10 anos. Por outro lado, na biomassa microbiana eles estimaram existir apenas 60, 9, 7 e 2 Gt de C, N, P e S, respectivamente. No entanto, a biomassa microbiana é reciclada com velocidade de até 50 vezes mais rápida (0,2 anos) que a fitomassa.

A distribuição de C e N e o tempo de reciclagem destes elementos na vegetação, MOS e biota do solo, em um ecossistema de gramíneas, encontram-se no Quadro 24, onde também se verifica um ciclo mais rápido dos componentes da biota quando comparados com os componentes da vegetação (1 a 4 anos) e da MOS do solo, que pode atingir 1.000 anos (Klein et al. 1990). Isto evidencia a essencialidade da microbiota e sua atividade na manutenção dos processos vitais do ecossistema. Comparando-se a dinâmica desses processos em floresta tropical e temperada, verifica-se que a reciclagem do C e N é de 13-14 anos na primeira e de 60 a 100 anos na segunda; portanto, mais rápida na floresta tropical (Smith & Paul 1990).

Isto explica sua fragilidade e a rapidez de sua degradação ambiental. Esses autores estimam que, para a manutenção da biomassa microbiana do solo nas florestas tropicais, são necessários 75 Gt de C e 6 Gt de N por ano. Desse modo, a microbiota do solo representa uma importante fonte de CO₂ para a atmosfera, podendo consumir até 4,5 t/ha/ano de C na sua manutenção.

Além do aspecto relacionado ao fluxo de C e energia, os resíduos orgânicos constituem importante fonte de nutrientes minerais (Quadro 25). No Brasil, os resíduos orgânicos oriundos dos restos culturais, rejeitos urbanos e industriais e produção animal atingem mais de 10 milhões de toneladas de N, P₂O₅ e K₂O (Igue & Pavan 1984). Em cultura de milho, por exemplo, são produzidos 6 Mg/ha de restos culturais com teores médios de 0,5% de N, 0,4% de P₂O₅ e 1,65% de K₂O, equivalendo a aproximadamente 30, 23 e 100 kg/ha de N, P₂O₅ e K₂O, os quais, se devidamente reciclados, contribuirão muito para a sustentabilidade da cultura. Os restos de leguminosas, como a soja, podem conter até três vezes mais N.

Em sistemas de produção agrícola, os restos vegetais devem ser incorporados ao solo para decomposição e reaproveitamento (Igue & Pavan 1984). Os nutrientes serão em parte liberados para o solo e em parte imobilizados temporariamente na biomassa microbiana, que pode ser responsável por um fluxo anual de até 40 e 10 kg/ha de N e P, respectivamente (Smith & Paul 1990). Embora mais de 80% do N no solo se encontre na fração estável da MOS, os 5% da biomassa fornecem, aproximadamente, a mesma quantidade de N mineralizado, em torno de 30% da mineralização. Isto provém da rápida reciclagem desta fração da MOS.

Quadro 24. Estimativas da compartimentalização de C e N, relação C:N e tempo de reciclagem em ecossistemas de gramíneas (modificado de Klein et al. 1990).

Componentes	Quantidade (t/ha)		C:N aproximada	Tempo de reciclagem (anos)
	C	N		
Parte aérea	1.130	39	29	1-2
Raízes vivas	880	23	38	3-4
Raízes senescentes	2.820	140	20	3-4
Matéria org. do solo	13.270	1.270	10	100-1.000
Bactérias e fungos	367	82	10	0,50-0,83
Protozoários	3,9	0,5	7	0,17
Nematóides	8,5	0,9	10	0,23-0,93
Insetos	3,3	0,2	8	0,54-0,68

Quadro 25. Teores de nutrientes em plantas, microrganismos e materiais orgânicos, e taxa de mineralização (Igue & Pavan 1984, Vancura & Kunc 1988, Smith & Paul 1990).

Nutriente	Principal fonte no solo	Teor na planta (%)	Restos vegetais (%)	Microrganismos (%)	Taxa de mineralização	
					Lixo urbano (kg/ha/ano)	Solo (kg/ha/ano)
N	MOS	1,5-4,0	0,5-4,0	5,09-14,6	1,31-6,2	0,6-6,0
S	MOS	0,2-1,0	0,2-2,0	-	0,50-1,2	0,4-3,6
P	MOS/col.*	0,1-0,4	0,1-1,0	1,2-1,8	1,59-2,5	1,8-2,4
K, Ca, Mg	Colóides	0,1-2,5	0,4-4,0	0,02-0,64	0,50-2,0	-
Micronutr.	MOS/col.	< 0,01	< 0,2	-	0,005-2,0	-

* MOS: matéria orgânica do solo; col.: colóides inorgânicos.

A exploração agrônômica dos processos biológicos para aumentar a fertilidade do solo ou controlar os problemas ambientais não tem tido o mesmo sucesso que o uso de microrganismos na indústria química, farmacêutica e na biometalurgia, em que diversos processos biológicos são explorados economicamente. Na exploração agrônômica pode ocorrer um rápido declínio da MOS (Figura 9). A solubilização de fosfatos, através do uso de *Thiobacillus* e microrganismos heterotróficos solubilizadores e mineralizadores, como *Bacillus* ("fosfobacterinas") e *Pseudomonas* (produtoras de sideróforos), parece vantajosa com as técnicas biotecnológicas, embora seu uso em larga escala ainda exija avanços científicos (Goldstein 1986). Atualmente, tem-se dado muita ênfase na exploração destes processos para diminuição de poluentes no solo, através da biorremediação (Shannon & Unterman 1993). Processos como a fixação biológica de N₂ e micorrizas têm obtido êxitos consideráveis do ponto de vista ecológico e econômico.

4 ASPECTOS BIOLÓGICOS DA DEGRADAÇÃO DO SOLO E POLUIÇÃO AMBIENTAL

4.1. Contaminação do solo e decomposição de xenobióticos

Aspectos gerais

A superfície da Terra e o clima vêm sofrendo transformações provocadas por ações antropogênicas, como desmatamentos, drenagem de terras alagadas, atividades agrícolas e construção civil. Mudanças climáticas interferem nos processos edáficos, especialmente nos processos biológicos responsáveis por transformações orgânicas e inorgânicas, as quais influenciam a vegetação, o clima e o solo (Figura 10).

C orgânico no solo

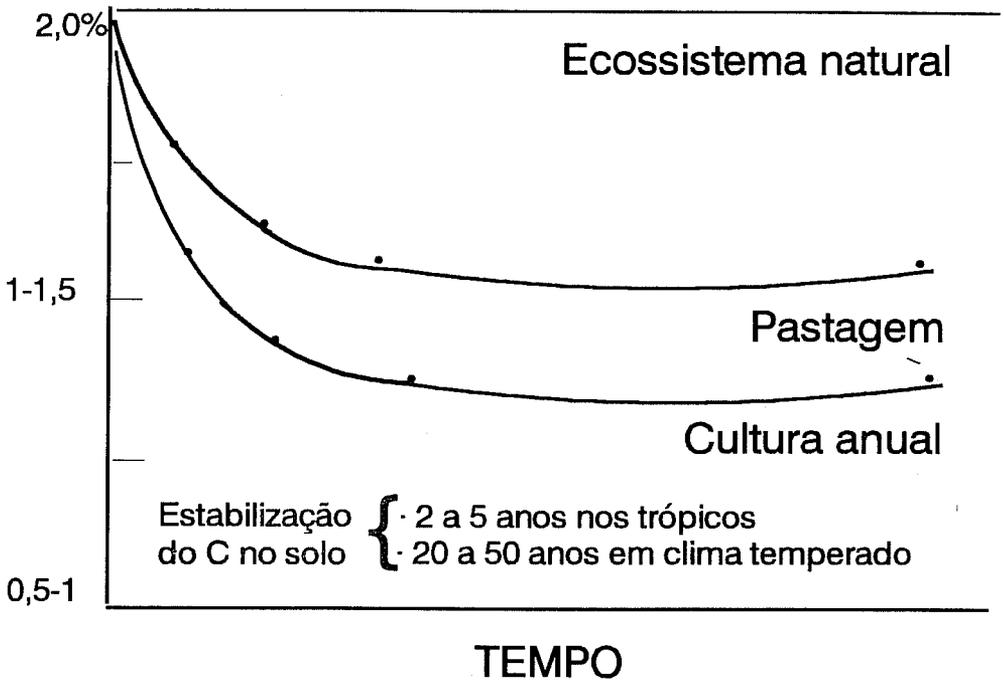


Figura 9. Estimativa de declínio da matéria orgânica de solo (MOS) em função do tempo e tipo de uso da terra (US-EPA 1990).

O solo, por ser o receptáculo final de grande parte dos rejeitos do planeta, está sujeito a contaminações por produtos químicos e agentes biológicos capazes de representar ameaças aos seres humanos, animais e à própria água (Finnecey & Pearce 1986, Sheppard et al. 1992). Geralmente, grandes quantidades de rejeitos são adicionadas, acidentalmente ou em operações planejadas, como no caso do "landfarming", que explora a capacidade degradadora do solo para livrar-se de rejeitos industriais poluidores (Skladany & Metting Júnior 1992). Neste caso, as operações são planejadas e os rejeitos, aplicados em áreas com características definidas, para degradar os principais fatores tóxicos dos rejeitos. A atividade biológica, além de indicador da qualidade do solo, juntamente com a vegetação, atua como filtro biológico de grande importância no processo de reciclagem e purificação de água de esgoto tratado (Safir et al. 1990).

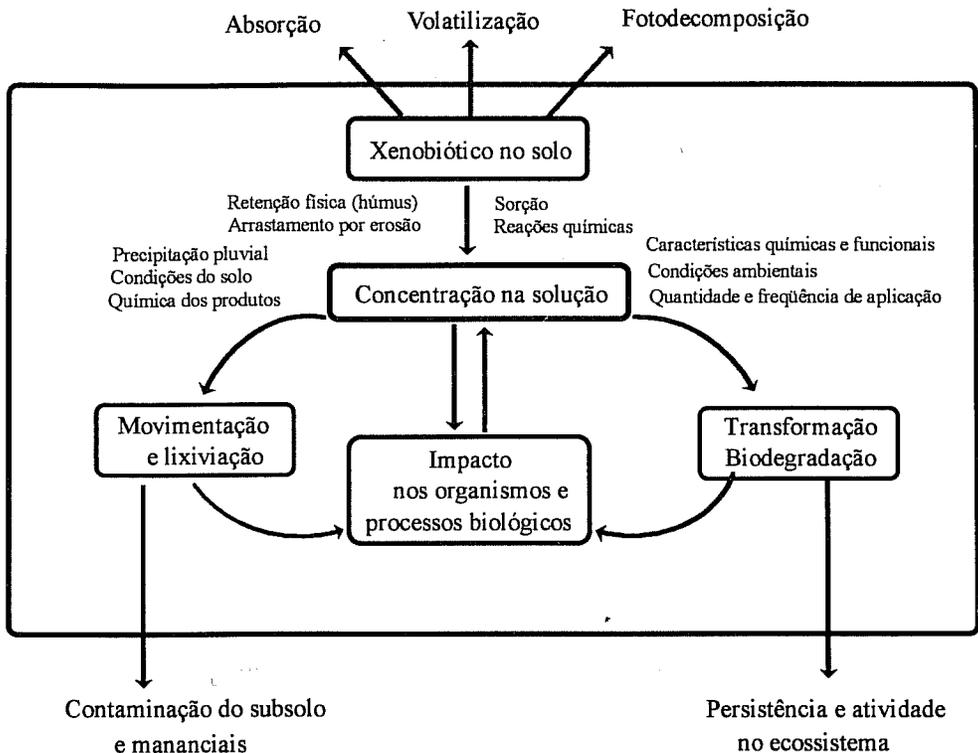


Figura 10. Impacto e consequência do desmatamento, com finalidade de exploração agropecuária, manejo do solo, construção civil ou mineração, na degradação do solo (Siqueira 1993a).

A aplicação de rejeitos industriais e urbanos pode trazer benefícios ao solo, tais como: elevação do pH e da CTC, fornecimento de nutrientes para as plantas e os microrganismos e melhoria das propriedades físicas. Porém, as características do resíduo, além de fatores do solo e do manejo agrônomo, devem ser levadas em consideração (Quadro 26). Cuidado especial deve ser tomado com rejeitos portadores de agentes patogênicos, como coliformes fecais e vírus. Dejetos do homem, do carneiro e do cachorro, por exemplo, contêm de 13 a $23 \cdot 10^6$ coliformes/g de fezes, e os de suínos e de cachorro contêm carga muito elevada de *Streptococcus* (Lynch & Hobbie 1988), sendo mais poluentes que a vinhaça e o esgoto.

A urbanização crescente tem exigido o aperfeiçoamento dos sistemas de coleta, tratamento e descarte de lixo e esgoto urbano. O beneficiamento dos rejeitos, com posterior reciclagem dos materiais recalcitrantes, como vidro, metal, plástico, e a compostagem da parte perecível e do lodo de esgoto contribuem muito para diminuir

os impactos ambientais da urbanização. O composto produzido nas unidades de processamento é geralmente utilizado como adubo orgânico ou condicionador de solos agrícolas ou áreas degradadas (Parr & Wilson 1980). Entretanto, eles podem representar ameaças ao meio ambiente e à saúde pública, devido à presença de contaminantes químicos e biológicos. Organismos patogênicos, como salmonelas, estreptococos, *Escherichia coli* e coliformes, podem ser encontrados em quantidades elevadas nos rejeitos, porém sua população decresce rapidamente após uma semana no solo (Dazzo et al. 1974). Em estudos realizados com o lixo coletado em Porto Alegre, foram encontrados $4,3 \cdot 10^3$ e até $7,8 \cdot 10^9$ UFC (unidade formadoras de colônias) de *Salmonella* spp. e *Streptococcus* sp., respectivamente. No entanto, esses patógenos não foram encontrados nos compostos de lixo (Escosteguy et al. 1993), em que se verificou também baixa população de coliformes fecais. Os coliformes apresentaram populações de 10^3 a 10^5 UFC/100 g de composto. Após a aplicação do composto ao solo, houve uma redução de 200 vezes na sua população, não havendo diferença entre solo tratado e não-tratado. Casos semelhantes são relatados para vírus e outras partículas causadoras de doenças. Portanto, o lixo urbano, quando adequadamente tratado, pode ser aplicado ao solo sem riscos de contaminação biológica do ambiente.

As principais fontes de contaminação do solo decorrem do uso de agroquímicos, deposição de rejeitos urbanos e industriais com materiais tóxicos, além de vazamentos e derramamentos acidentais de poluentes, muitas vezes recalcitrantes ou com baixa degradabilidade no solo. Esses poluentes acumulam e interferem nos processos funcionais do solo, pois levam à queda de produtividade e à degradação e podem representar perigo para a saúde humana e animal e contaminar mananciais.

Quadro 26. Principais características consideradas na utilização de resíduos orgânicos no solo (Smith et al. 1992).

Características do resíduo		Fatores do solo	Manejo do resíduo para fins agrônômicos
Restos culturais	Rejeitos orgânicos		
Relação C:N	pH	Umidade	Quantidade
Textura	Salinidade	Temperatura	Aplicação(modos, época etc.)
Nutrientes	DBO e DBC ¹	pH e Eh	Cultivo
Composição	Relação C:N	Aeração	Cultura
	Metais pesados	Teor de argila	Clima
	Nutrientes	Matéria orgânica	
	Orgânicos tóxicos Patógenos	Atividade biológica	

¹ DBO: demanda bioquímica de oxigênio; DBC: demanda bioquímica de carbono.

O solo recebe constantemente uma variedade de compostos sintéticos, como detergentes, lubrificantes, plásticos, pigmentos, biocidas e outros, denominados xenobióticos (xeno = estranho; biótico = vida).

De todos os compostos que atingem o solo, os pesticidas merecem consideração especial, pois seu desaparecimento, persistência e transformações indicam sua eficácia como produto e seu perigo potencial para a microbiota e para a qualidade do meio ambiente.

Pesticidas

Os pesticidas, também conhecidos vulgarmente como agrotóxicos, tiveram seu uso intensificado a partir de 1940, quando passaram a ser produzidos em grande quantidade. Estes são defensivos agrícolas com ação tóxica (cida), tendo como ingrediente ativo compostos químicos formulados para controlar ou erradicar, de maneira geralmente específica, as doenças e pragas das plantas e dos animais e os vetores de doenças do homem. Existem milhares desses compostos registrados como pesticidas, variando de moléculas simples, como CH_3Br (brometo de metila), às moléculas complexas, como o aldrin. Do total de pesticidas utilizados, em torno de 97% são herbicidas, inseticidas e fungicidas, que representam 65, 25 e 7%, respectivamente. O restante (3%) inclui nematicidas, acaricidas, moluscocidas, rodenticidas e outros (Siqueira & Franco 1988).

O impacto desses produtos sobre o meio ambiente é assunto polêmico e amplamente debatido por toda a sociedade e comunidade científica. Seu impacto sobre a microbiota do solo e os processos biológicos é difícil de ser determinado com precisão, devido à natureza, heterogeneidade, dinâmica e respostas adaptativas da população microbiana. Tentativas de avaliar esses efeitos, bem como a capacidade da microbiota em degradar esses produtos, têm atraído as atenções dos microbiologistas do solo, de tal modo que a relação "microbiota:pesticidas" constitui importante campo de pesquisa da microbiologia e bioquímica do solo. Especialistas procuram conhecer os mecanismos relacionados à degradação, para evitar a "bioacumulação" dos xenobióticos na pedosfera, na água e na cadeia alimentar, bem como o seu impacto na atividade microbiológica e nos processos edáficos. O impacto negativo dos pesticidas nos microrganismos do solo é complexo e difícil de ser avaliado, devendo-se, para isto, considerar a magnitude, duração, reversibilidade e persistência do efeito adverso na população. Os efeitos devem ser avaliados utilizando-se indicadores específicos (Quadro 27), os quais apresentam sensibilidade alta, média e baixa, sendo considerados críticos, ou potencialmente perigosos, aqueles com efeitos superiores a 60 dias de duração (Domsch et al. 1983).

Quadro 27. Parâmetros de avaliação do impacto dos xenobióticos no solo (Domsch et al. 1983).

Nível de sensibilidade	Organismo/processo
Alta	Nitrificadores, rizóbio, actinomicetos, taxa de degradação, matéria orgânica e nitrificação
Média	Algas, bactérias, produção de CO ₂ , absorção de O ₂ , fungos, desnitrificação e amonificação
Baixa	Fixação aeróbica de N ₂ , <i>Azotobacter</i> , amonificadores, população geral e degradadores de proteínas

Utilizando-se desse conceito, especialistas alemães verificaram que, em apenas 2% dos 734 experimentos analisados de trabalhos científicos publicados, as respostas foram consideradas críticas, com possível impacto no ambiente. Embora esses resultados devam ser interpretados com muita precaução, eles indicam que a aplicação de pesticidas específicos, em doses recomendadas, não resulta em efeitos crônicos prejudiciais aos microrganismos não-alvos e aos processos biológicos do solo (Domsch et al. 1983, Moorman 1989). Esses autores revelam aspectos interessantes da relação pesticida:microrganismo, os quais são resumidos a seguir:

- a) os organismos do solo respondem diferentemente aos pesticidas;
- b) a população total e os processos bioquímicos são pouco afetados por pesticidas 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 rizóbios e fungos rizicos;
- f) os efeitos negativos dos pesticidas exercem pouca influência nos processos relacionados à fertilidade do solo.

A relação entre as quantidades aplicadas e aquelas requeridas para inibir transformações do N no solo foi discutida por Goring & Laskowski (1982). Segundo esses autores, poucos produtos, como os hidrocarbonetos clorados, apresentam potencial de inibição. O impacto dos xenobióticos no solo dependerá da taxa de acumulação do produto, que é controlada pela sua degradabilidade e pela taxa e frequência de aplicação. No entanto, diversos produtos químicos usados na agricultura podem causar impacto, pelo menos temporário, sobre a população de microrganismos do solo, como ocorre com os fumigantes e outros produtos de largo espectro (Quadro 28). Catallo & Portier (1992) relatam decréscimo significativo na

microbiota do solo em áreas contaminadas com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Entretanto, na maioria dos casos, a microbiota recuperou-se rapidamente, podendo até mesmo retornar a níveis superiores ao original (Greaves et al. 1976, Domsch et al. 1983, Edwards 1989, Moorman & Dowler 1991). O tratamento de um solo da Califórnia (EUA) com cloropicrina reduziu sua população de bactérias, um dia após a aplicação, de 48.10^6 para apenas 4.10^6 células/grama de solo. Dez dias após, o solo tratado tinha 71.10^6 bactérias/g de solo (Martin & Focht 1977). Resultados semelhantes são relatados para outros microrganismos e isto pode ser assim explicado:

- a) o material celular dos microrganismos mortos torna-se substrato prontamente disponível para os sobreviventes ou invasores que, por não sofrerem competição, 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 no solo modificações físicas, químicas e fisico-químicas que favorecem a proliferação microbiana.

Desde que os pesticidas sejam aplicados rigorosamente de acordo com as recomendações técnicas (Edwards 1989, Moorman 1989), seus efeitos ecológicos sobre a comunidade microbiana do solo são geralmente temporários (Wardle 1992, Wardle & Hungria 1994). Mesmo assim, o uso prolongado de um mesmo produto pode exercer efeito diferenciado sobre a comunidade microbiana, causando modificações qualitativas que podem gerar desequilíbrios microbiológicos, com reflexos negativos no ecossistema. Cuidados especiais devem ser tomados quando se pratica a inoculação de organismos benéficos no solo ou nas sementes. Nesse caso, deve-se verificar a compatibilidade do produto com os microrganismos ou processos envolvidos.

Quadro 28. Perfil ecotoxicológico dos pesticidas no solo (Domsch et al. 1983).

Categoria/produto	Organismo ou processo afetado
<u>Crítico</u> - brometo de metila (inibição dura mais de 60 dias)	Rizóbio, actinomicetos, nitrificação, respiração, micorriza, <i>Pseudomonas</i> , amilase
<u>Tolerável</u> - 2,4-D (reversível em 30 a 60 dias)	Fixadores anaeróbicos de N, degradadores de celulose, actinomicetos, respiração, nitrificadores, população de fungos e bactérias
<u>Negligível</u> - atrazina (reversível em menos de 30 dias)	Produção de CO ₂ , degradadores de amido e atividade de desidrogenase

É necessário considerar, ainda, que o uso de produtos com elevada toxicidade e baixa degradabilidade pode resultar em acúmulo nas plantas, nos animais e na água, causando danos ecológicos e problemas para a saúde humana, como é o caso do uso de carbamatos (aldicarb) e organofosforados (carbofuran), que são inseticidas de largo espectro e elevada toxicidade, o que representa ameaças ao meio ambiente (Chapalamadugu & Chaudhry 1992). O aldicarb, apesar de ser degradado rapidamente, apresenta elevada mobilidade no perfil do solo, podendo contaminar cursos de água e lençol freático. De fato, existem evidências de contaminação por aldicarb e forato em mananciais de regiões agrícolas do sul de Minas Gerais, atingindo níveis superiores aos considerados críticos nos países desenvolvidos (R. Regitano, ESAL, Comunicação Pessoal). O desaparecimento do aldicarb (Temik) varia consideravelmente com o tipo de solo e horizonte, sendo a meia vida deste produto muito maior nos horizontes B e C (Barbosa & Rigitano 1994), onde a atividade biológica é muito reduzida.

A degradação dos pesticidas no solo é predominantemente microbiológica; segue a lei cinética de primeira ordem e é controlada por características estruturais do composto, fatores ambientais e propriedades do solo (Quadro 29).

A degradabilidade dos compostos orgânicos diminui com a redução do tamanho da cadeia, e as formas insaturadas e cadeias ramificadas são mais resistentes do que as saturadas e estruturas lineares. Assim, a biodegradabilidade dos hidrocarbonetos diminui na seguinte seqüência: alcanos > alcenos > aromáticos > ciclos aromáticos. A especificidade de decomposição biológica aumenta com a elevação da resistência da molécula à decomposição. Muitos compostos xenobióticos são recalcitrantes, persistindo no solo por períodos muito longos (Alexander 1981, Wallnöfer & Engelhardt 1989, Hardman 1991, Chapalamadugu & Chaudhry 1992). Estes incluem os compostos aromáticos clorados de vários tipos, como bifenilclorados, inseticidas organo-clorados - notadamente o DDT -, que, embora proibidos na maioria dos países, inclusive no Brasil, continuam em uso, e os herbicidas diquat e paraquat. O fenômeno da recalcitrância, isto é, a baixa degradabilidade no solo, é controlado pelos seguintes fatores:

- a) características estruturais do composto, tais como a quantidade de substituição e a natureza do grupo introduzido 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 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.

Quadro 29. Principais fatores que controlam a biodegradação, mobilidade e persistência de xenobióticos no solo.

Características estruturais	Fatores ambientais
Tamanho, formas, cargas	Acessibilidade da molécula ao ataque enzimico ou microbiano
Grupos funcionais e estrutura	ph, condições de aeração, Eh, temperatura
Grau de polimerização	Nutrientes essenciais ao metabolismo microbiano
Presença de cadeias laterais	Presença de organismos e plasmídeos com capacidade metabólica específica
Toxicidade, concentração e solubilidade	Textura e matéria orgânica
Presença de halogênios, grupo nitro ou sulfonados na posição meta	Teor e tipo de argila do solo

Com relação à persistência no solo, os pesticidas são agrupados em não-persistentes ou biodegradáveis, moderadamente persistentes, persistentes ou recalcitrantes. São considerados não-persistentes aqueles com-meia vida menor que 30 dias (aldicarb, captan), moderadamente persistentes aqueles com meia-vida entre 30 e 100 dias (atrazina, carbofuran), e persistentes aqueles com meia-vida superior a 100 dias (hidrocarbonetos clorados). Esta classificação, no entanto, não pode ser muito rigorosa, pois a degradabilidade depende muito da classe e do tipo de solo e das condições ambientais (Musumeci 1992).

Valores médios de persistência de pesticidas no solo variam de poucos dias até décadas. O hidrocarboneto clorado DDT, por exemplo, com meia-vida de 3 a 10 anos, e o dieldrin, com meia-vida de 1 a 7 anos, podem ser detectados no solo aos 24 e 21 anos após a aplicação, respectivamente, e apresentar um potencial de acumulação no solo próximo a 500 kg/hectare, dependendo da frequência de aplicação (Goring & Laskowski 1982).

As alterações dos pesticidas, principalmente aquelas que levam à destoxicação, constituem uma das grandes funções da microbiota dos solos, pois evitam, ou pelo menos reduzem, o acúmulo desses produtos no solo, na água e nos alimentos. Essas alterações resultam do metabolismo biológico (reações enzimáticas) dos microrganismos que usam os pesticidas como fonte de energia, p.ex. carbono e, ocasionalmente, nitrogênio e enxofre, ou do co-metabolismo, quando a substância é metabolizada, mas não serve como fonte de energia para o crescimento microbiano (Alexander 1981).

Uma diversidade imensa de gêneros de microrganismos tem a capacidade de transformar ou degradar os pesticidas (Bergmann et al. 1989), e isto tem sido amplamente estudado nos países desenvolvidos, onde contaminações do solo e água são mais comuns. Esses organismos promovem alterações químicas diversas que são mediadas por enzimas e variam de simples transformações, como a remoção de átomo(s) da molécula, até a sua mineralização completa. O hidrocarboneto clorado DDT é considerado recalcitrante na Natureza, mas vários microrganismos possuem a maquinaria enzimática capaz de degradá-lo, embora vagarosamente (Boyle 1989, Hardman 1991). A remoção de um simples átomo de cloro da molécula já o torna bem menos tóxico. Em contraste, o herbicida 2,4-D é facilmente degradado por microrganismos que, através de transformações diversas, retiram energia para o crescimento e transformam seus constituintes orgânicos em minerais simples (Wallnöfer & Engelhardt 1989).

A dinâmica e bioacumulação dos pesticidas no solo é, no entanto, controlada por vários fatores relacionados às características do produto, do solo e do ambiente (Wagenet & Hutson 1990) (Figura 10). Dentre estas características, a biodegradabilidade, a frequência de aplicação e a dose empregada são os controladores da acumulação no solo, pois determinam a possível interferência destes nos processos biológicos e bioquímicos do ecossistema (Goring & Laskowski 1982, Biederbeck et al. 1987).

Metais pesados

Os metais pesados representam outro grupo de poluentes de grande importância ecológica e ambiental. As contaminações com metais pesados resultam da decomposição de lixo, esgoto, fertilizantes e dos efeitos da chuva ácida (Klein & Thayer 1990, Tyler 1981). Estes metais podem afetar a microbiota e interferir nos processos do solo, como:

- a) redução da abundância e diversidade da microbiota;
- b) redução na decomposição, mineralização e respiração do solo;
- c) redução na formação e atividade de simbioses radiculares;
- d) transformações do N;
- e) atividade enzimática do solo.

Concentrações normalmente encontradas em solo natural e solo poluído e os níveis críticos recomendados pelos países europeus, bem como os teores médios encontrados em composto de lixo urbano, encontram-se no Quadro 30, e as concentrações necessárias para inibir alguns processos do solo encontram-se no Quadro 31. O efeito depressivo é aditivo e concentrações elevadas podem inibir populações de diversos fungos e bactérias e alterar de imediato os processos vitais do ecossistema (Doelman 1986).

Quadro 30. Teores de metais pesados em solos, valores máximos permitidos e potencial de acumulação no solo (Doelman 1986).

Elemento	Solo natural	Solo poluído	Permitido		Potencial ² de acúmulo
			CEE ¹	Canadá	
----- mg/kg de solo -----					
Cádmio	0,05-1,8	3-84	1,0	3,0	2,5
Cromo	11-117	24-1.645	50	750	137
Cobre	0,83-50	140-1.287	50	150	232
Mercúrio	0,02-0,51	0,5-45	2	0,8	1,39
Níquel	0,5-47	10-357	30	150	75
Chumbo	3,1-200	150-1.306	50	375	203
Zinco	6,4-189	330-4.470	15	600	499

¹ CEE: Comunidade Econômica Européia.

² Quantidade depositada quando se aplicam 10 t/ha de composto de lixo.

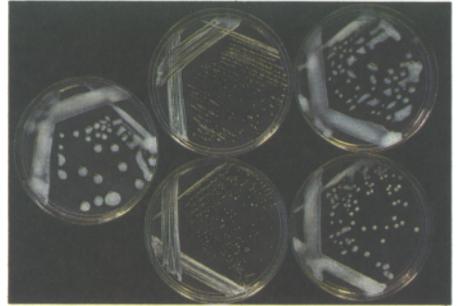
Quadro 31. Concentração de poluentes de solo requerida para inibição de processos bioquímicos (segundo Doelman 1986).

Fator poluente/ metais pesados	Respiração do solo	Mineralização do nitrogênio	Taxa de nitrificação
----- mg/kg -----			
Cádmio (Cd)	10	100	50
Cromo (Cr)	200	200	200
Cobre (Cu)	100	100	100
Mercúrio (Hg)	1	10	10
Níquel (Ni)	10	100	80
Chumbo (Pb)	100	400	400
Zinco (Zn)	10	100	80

Hg e Pb não têm funções biológicas, enquanto outros, como Zn, Cu, Ni, Co e Cr, são essenciais para plantas, animais e microrganismos, mas requeridos em pequenas quantidades. Todos eles, porém, são potencialmente tóxicos em concentrações elevadas e causam desnaturação de proteínas, inativação de grupos SH e bloqueios de sítio de ligação nas enzimas (Tyler 1981). Nos países desenvolvidos, já foram estabelecidos limites permissíveis de concentração de metais pesados em solos que recebem resíduos de esgoto (Quadro 30). Estes limites foram estabelecidos para diferentes valores de pH do solo, uma vez que este influencia a solubilidade e atividade de metais pesados, e para solos sob diferentes cultivos, pois estes têm comportamento fisiológico diferenciado, por exemplo, na absorção e nos sintomas de toxicidade em função do pH.



Nódulos no caule de *Sesbania*.



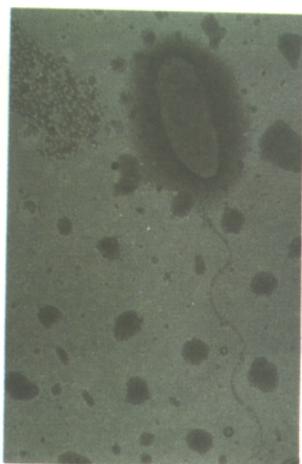
Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro.



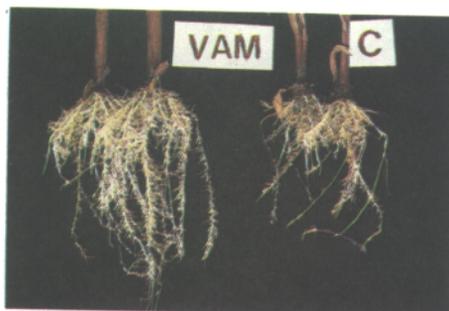
Feijão com inóculo para plantio direto.



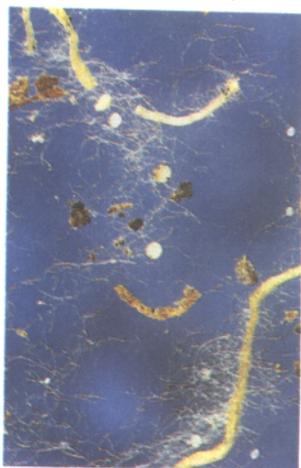
Basidiocarpo.



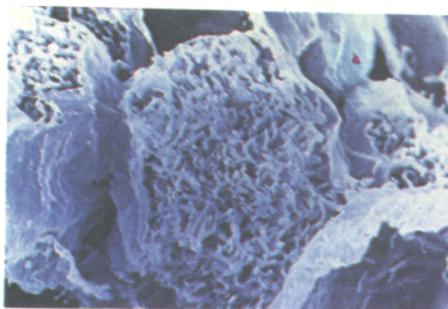
Azospirillum amazonense
em microscópio eletrônico
de transmissão.



Raízes de milho micorrizadas e não-
micorrizadas.



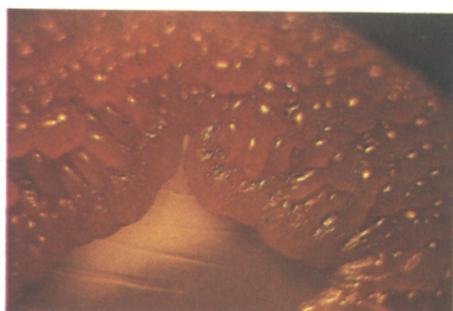
Glomus occultus ampliado.



Nódulos em microscópio eletrônico de
varredura (Cortesia de Dra. Maria de
Fátima Moreira, UFMT).



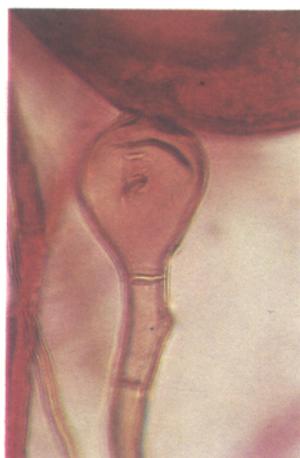
Mudas de jacarandá micorrizadas.



Derxia gomosa.



Azolla no meio do arroz.



Hifa de sustentação dos
Azigosporos.



Nódulos de feijão.



Hifas de micorriza.



Feijoeiro com inóculo plantado entre fileiras de milho maduro.

Vários estudos evidenciam os efeitos de metais pesados nos microrganismos e processos biológicos importantes (Delman 1986, Landmeyer et al. 1993). A aplicação de resíduo de esgoto não-industrial por oito anos no solo não teve efeito na infecção por fungos MVA em raízes de cevada, ao contrário do que foi verificado quando se aplicou resíduo industrial (Boyle & Paul 1988). Neste caso, a taxa de colonização micorrizica foi reduzida em seis vezes. Koomen et al. (1990) também, encontraram que a infecção de trevo por MVA foi retardada em solos contaminados por metais pesados resultantes de aplicações anteriores de resíduos de esgoto. Tal como se verifica nas bactérias, fungos micorrizicos também exibem tolerância a metais pesados (Gildon & Tinker 1981, 1983, Smith 1990). McCreight & Schroeder (1982) verificaram comportamento bastante diferenciado de diversos fungos ectomicorrizicos a metais pesados. *Suillus brevipes* mostrou elevada sensibilidade ao Cd, enquanto *Laccaria laccatta* e *Telephora terrestris* mostraram-se mais tolerantes. *L. laccatta* apresentou inibição de 50% do crescimento com 0,2 µg/ml de Pb e *Suillus lutens* só foi inibido com 528 µg/ml de Pb. Este mesmo fungo e *Cenococcum gramiforme* apresentaram elevada tolerância a Ni, ao contrário do *Rhizopogon roseolus*, que foi inibido com menos de 1 µg/ml deste elemento.

Diversos metais pesados são tóxicos para rizóbio, planta hospedeira e para a simbiose rizóbio-leguminosas, quando presentes no solo em concentrações moderadas a altas (Reddy et al. 1983, McGrath et al. 1988, Giller et al. 1989, McGrath 1994), podendo reduzir a taxa de fixação de N₂ simbiótica. Esses efeitos dependem das características químicas do solo, das espécies microbianas e do tempo de exposição do solo contaminado (Angle et al. 1993). Entre várias estirpes e espécies de rizóbio (*Rhizobium leguminosarum*, biovar *trifolii*, *phaseoli* e *viceae*, *R. meliloti* e *R. fredii*) e *Bradyrhizobium* (*B. japonicum*), este último foi o organismo que apresentou maior tolerância a metais (Zn, Cd, Cu, Ni) em meio de cultura. Esta capacidade se refletiu no ótimo desempenho de sua simbiose com soja, em solo enriquecido com resíduo de esgoto contaminado (Angle et al. 1993). Diferenças na sensibilidade a metais foram detectadas não só entre as espécies, mas também entre isolados. Isolados de *R. leguminosarum* bv. *trifolii* oriundos de parcelas que receberam resíduos de esgoto foram mais resistentes aos efeitos tóxicos de Zn e Cu que isolados do mesmo biovar, oriundos de parcelas que receberam esterco. Estas estirpes, porém, foram inefectivas em simbiose com trevo, em solos expostos por muitos anos à água de esgoto com metais pesados. Chaudri et al. (1993) demonstraram que o baixo conteúdo de N, a clorose e o atrofiamento de plantas de trevo nestes solos não foram devidas à fitotoxicidade, mas à falta de fixação de N₂.

A grande resistência de *B. japonicum* a metais pesados, encontrada por Angle et al. (1993), pode ser atribuída a duas características desta espécie: a grossa cápsula de polissacarídeos extracelulares (EPS), que se ligaria e sequestraria metais para evitar sua absorção pelas células (Beveridge & Doyle 1989), e à alcalinização do

meio, que contribuiria para reduzir a solubilidade e atividade de metais (Alexander 1977). Outro mecanismo seria a exclusão do íon metálico pela cápsula de EPS, como foi demonstrado em *Escherichia coli* (Mitra et al. 1975) e em *Klebsiella aerogenes* (Bitton & Freihof 1978).

Santos et al. (1992) encontraram efeito altamente positivo da aplicação de composto de lixo urbano na nodulação, produção de grãos e matéria seca de *Vigna unguiculata* inoculada com *Bradyrhizobium*, embora altas concentrações de Zn (42 ppm) e Cu (13 ppm) tenham sido detectados no composto. Estudos conduzidos com *Phaseolus vulgaris* indicaram efeito favorável do composto de lixo urbano na nodulação, desenvolvimento, nitrogênio e fósforo totais das plantas inoculadas com as estirpes de *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli C-05 e SEMIA 487, assim como efeito amenizador da acidez do solo (Peixoto et al. 1987). O aumento do pH do solo e a diminuição na concentração de alumínio trocável são efeitos favoráveis atribuídos à aplicação de composto de lixo urbano (Mazur et al. 1983). No entanto, em nenhum desses trabalhos considerou-se a possível acumulação de metais pesados após as aplicações sucessivas de composto.

A reciclagem do lixo é um dos mais sérios problemas que afetam os grandes centros urbanos. Tentativas que estimulem sua utilização, principalmente na produção agrícola, devem ser encorajadas. No entanto, as limitações impostas por suas características, principalmente com relação aos teores de metais pesados, devem ser consideradas, para que os efeitos benéficos não sejam anulados por efeitos de poluição ambiental a longo prazo (Patr & Wilson 1980).

4.2. Processos biológicos do solo e poluição ambiental

Diversos processos biológicos do solo contribuem para aumentar a poluição atmosférica e a contaminação de solo, água e alimentos ou oferecem riscos à saúde pública (Quadro 32). Com relação aos gases responsáveis pela poluição atmosférica, com exceção dos CFC's (clorofluorcarbono), todos podem ser emitidos por processos ocorridos no solo (Quadro 33).

Dentre os gases emanados do solo e envolvidos no efeito estufa e na redução da camada de ozônio têm-se:

- a) emissão de CO_2 pela respiração edáfica (queima biológica da matéria orgânica do solo e respiração das raízes);
- b) produção de CH_4 em condições anaeróbias, como em áreas de pântanos e cultivo de arroz inundado; e
- c) desnitrificação que ocorre na ausência de O_2 .

Quadro 32. Atividade microbiana e processos de impacto ambiental.

Processo	Produto	Impacto ambiental
Mineralização	CO ₂ , NH ₃ , metais	Efeito estufa e contaminação
Desnitrificação	N ₂ , N ₂ O	Efeito estufa e camada de O ₃
Redução (diversas)	CO, CH ₄ , N ₂ S	Efeito estufa, poluentes
Nitrificação	NO ₃ ⁻	Contaminação da água e dos alimentos
Decomposição	Dimetilsulfato	Poluente
Produção de odores	Geosmina	Poluente, alergias
Metilação	Metais metilados	Carcinogênicos e poluentes

Quadro 33. Principais fontes e aspectos dos gases poluentes da atmosfera (Bouwman 1989, Smith 1990, US-EPA 1990).

Gás	Principais fontes	Absorção/ radiação ⁽¹⁾	Aumento nos últimos 100 anos ⁽²⁾ (%)	Efeito estufa ⁽³⁾ (%)	Camada de ozônio	Necessidade de redução ⁽⁴⁾ (%)
CO ₂	Fósseis Desmatamento Solo	1	21	50	+ ⁽⁵⁾	50-80
CH ₄	Fósseis Solos inundados Ruminantes	10-100	89	19	+	10-20
N ₂ O e NO	Fertilizantes Desmatamento Queimadas	100-1.000	6,7	5	+	80-85
CFC's	Aerosóis Refrigeração	> 1.000	Inexistente há 100 anos	14	+	75-100
NH ₃ ⁽⁶⁾	Fertilizantes Mineralização	-	-	?	?	-
CO ⁽⁶⁾ NO _x SO ₂ H ₂ S	Fósseis Queimadas	-	10-26	+	+	Cessar a emissão

⁽¹⁾ Potencial de absorção de radiação solar (relativo à molécula de CO₂).

⁽²⁾ Taxa estimada de aumento percentual em 100 anos.

⁽³⁾ Contribuição relativa para o efeito estufa ou aquecimento da biosfera.

⁽⁴⁾ Efeito positivo (+) na redução da camada de ozônio (O₃).

⁽⁵⁾ Necessidade de redução na emissão global do gás.

⁽⁶⁾ Precipitação ácida.

A participação total relativa de cada gás no efeito estufa tem sido estimada (Quadro 33), mas pouco se sabe da participação relativa dos gases originados do solo, considerando-se que existem outras fontes antropogênicas e naturais destes gases (US-EPA 1990). No entanto, as atividades agrícolas e mudanças no uso da terra contribuem com mais de 20% para o efeito estufa. Certamente, os países desenvolvidos, grandes consumidores de combustíveis fósseis, são os maiores poluidores da atmosfera. Visando a desacelerar a destruição da camada de ozônio e a poluição atmosférica, especialistas já estimaram as necessidades de redução na emissão destes gases (Quadro 33), e para isso o manejo do solo e de seus processos biológicos torna-se de grande importância. O reflorestamento tem sido apontado como uma opção para amenizar os problemas gerados pela poluição atmosférica. No entanto, para retirar o excesso de CO₂ da atmosfera, estima-se que seria necessário reflorestar de 400 a 500 milhões de ha (US-EPA 1990).

A biomassa vegetal e a matéria orgânica do solo armazenam 664 e 1.301 Gt de carbono, respectivamente (Anderson 1992). A biomassa microbiana contém em torno de 13,9 Gt de C (Wardle 1992) e decompõe em torno de 43 Gt de C anualmente, representando grande emissão de CO₂ na atmosfera (Smith & Paul 1990). Wardle (1992) estimou que a biomassa microbiana contribui com 2,2% do teor atual de CO₂ atmosférico. O solo, portanto, armazena ou emite gases poluidores, dependendo do clima e das condições de manejo.

Os solos submetidos a cultivos intensivos ou manejo inadequado, a drenagem de solos orgânicos e cultivo de solos inundados, a degradação e erosão do solo e o desmatamento favorecem a emissão do CO₂, tornando o solo uma importante fonte deste agente poluidor. O cultivo do solo geralmente provoca queda no teor de carbono, porque favorece sua mineralização, sendo afetado pelo clima e manejo (Cardoso et al. 1992) (Figura 9). O desmatamento de florestas e a drenagem de áreas alagadas para exploração agrícola contribuem muito para a emissão de CO₂ do solo. No desmatamento, a queima da biomassa derrubada e da necromassa são responsáveis pela maior emissão de CO₂, mas a decomposição da matéria orgânica do solo contribui para a emissão de gases e para acelerar a degradação do solo, exercendo grande impacto ambiental. Os mecanismos responsáveis pela redução do C orgânico em solos desmatados discutidos por Vitousek (1983) são os seguintes:

- a) remoção pelo próprio desmatamento;
- b) combustão orgânica e pelo fogo;
- c) decomposição acelerada provocada pela alteração do microclima;
- d) reposição inadequada do carbono;
- e) remoção acelerada pela erosão da camada superficial do solo desprotegido;
- f) aumento no fluxo de metano (CH₄);
- g) lixiviação de carbonatos.

Por outro lado, a incorporação dos restos culturais, a adição de matéria orgânica e a adubação verde, a recuperação de solos degradados, o cultivo mínimo, práticas conservacionistas de controle da erosão e o reflorestamento contribuem para aumentar o armazenamento de carbono no solo, tornando-o um dreno de CO₂ da atmosfera. A retenção de C na MOS representa inúmeras vantagens para a produtividade e funcionalidade do ecossistema (Cresser & Edwards 1993).

O metano (CH₄) é outro gás de grande importância, pois ele é muito mais efetivo que o CO₂ na absorção da radiação solar na superfície da terra. A concentração global deste gás tem aumentado a uma taxa de 1% ao ano, sendo de origem biogênica 80% do CH₄ produzido, isto é, em condições de anaerobiose. Apenas nos campos de arroz inundados são produzidos de 70 a 170 milhões de toneladas de CH₄ anualmente (Lindau et al. 1991), representando uma enorme fonte deste poluente atmosférico.

O CH₄ é produzido por bactérias chamadas "metanogênicas", que podem ser fermentativas, redutoras ou acetogênicas. A presença de SO₄²⁻ e compostos nitrogenados interferem na produção deste gás. A aplicação de uréia na cultura do arroz, por exemplo, aumentou a emissão de CH₄ de 210 para 370 kg/ha no período de 86 dias (Lindau et al. 1991). Os pântanos não cultivados, as fermentações anaeróbias (biogás) e os ruminantes são também importantes fontes biogênicas de CH₄ (US-EPA 1990).

Apesar de contribuir com apenas 5% para o efeito estufa, a produção de gases do N durante a nitrificação e desnitrificação é muito importante para a poluição atmosférica. Os gases produzidos pela desnitrificação (N₂O e NO) causam destruição da camada de ozônio (O₃) da troposfera/estratosfera terrestre (Stevenson 1986). A camada de O₃ funciona como um filtro de raios ultravioleta emitidos pelo sol, pois evitam sua incidência na crosta terrestre, onde pode exercer grande impacto na biodiversidade e produtividade dos ecossistemas. A destruição desta camada poderá trazer consequências desastrosas e comprometer a vida no planeta, pois estes raios são agentes cancerígenos, mutagênicos e podem causar outros efeitos devastadores nas diversas formas de vida.

A produção dos gases N₂O, NO e CO₂, resultantes de processos bioquímicos do solo, somada à das indústrias e à exaustão pelos carros, promovem enriquecimento destes gases na atmosfera, provocando aquecimento da biosfera e distúrbios climáticos, como as secas, que têm ocorrido com muita frequência. A desnitrificação atinge 161.10⁶ t/ano de N e o controle rigoroso das práticas de adubação e do manejo do solo, no sentido de reduzir ou adequar a velocidade de determinadas transformações no ciclo do N e também do C, torna-se fundamental para a produtividade e lucratividade das culturas e para a preservação ambiental.

Além dos efeitos poluidores dos gases nitrogenados, outros compostos do N, como os próprios NO_3^- e NO_2^- e as nitrosaminas, são de grande interesse para a qualidade do meio ambiente (Quadro 21). O NO_3^- é ainda facilmente lixiviado no solo, podendo atingir os mananciais. Este é um problema comum nos países desenvolvidos, onde doses elevadas de fertilizantes nitrogenados são empregados na agricultura (National Academy of Sciences 1989, Stevenson 1982, 1986). O potencial de poluição dos mananciais com NO_3^- ou NO_2^- (eutroficação), a produção de nitrosaminas a partir de NO_2^- no solo e os vapores de NH_3 representam sérias ameaças para a saúde pública e a produção animal. O NO_3^- é reduzido a NO_2^- no organismo humano ou animal, e o NO_2^- formado causa a oxidação do Fe^{2+} da fração heme da hemoglobina para Fe^{3+} produzindo a metemoglobina (que não transporta O_2), reduzindo assim a capacidade do sangue de transportar O_2 dos pulmões para o resto do corpo. Nestas condições, o sangue assume uma coloração com tons de marrom e a morte por asfixia pode ocorrer, principalmente em crianças com menos de seis meses de idade. O nível crítico de N em águas é considerado 50 mg de NO_3^- ou 11,3 mg de N por litro. Além da formação da metemoglobina, o excesso de NO_2^- também encontrado em alimentos e na água forma nitrosaminas, que são agentes cancerígenos (Alexander 1973, Stevenson 1986). Assim, a mineralização do N-orgânico e a nitrificação são processos biológicos do ciclo do N que podem contribuir para a poluição atmosférica do solo e da água. Por isso, esses processos devem ser manejados de modo a reduzir seu impacto no meio ambiente e aumentar a eficiência dos fertilizantes nitrogenados. Outros elementos aplicados ao solo via fertilizante podem atuar como poluentes, tal como se verifica com o P, que atinge as águas por erosão e o esgoto; causando eutroficação.

Além da produção de gases, os microrganismos do solo produzem uma variedade de substâncias voláteis como compostos organo-sulfurados (dimetilsulfato) e geosminas produzidas pelos actinomicetos. Estes compostos são também poluentes atmosféricos, carcinogênicos e causadores de alergias. Além destas, outras transformações que ocorrem no solo resultam na síntese de compostos poluentes com ação mutagênica ou tóxica, mesmo em pequenas concentrações (Alexander 1973). Estes incluem a formação de compostos organometálicos do tipo CH_3 -metal (Co, Ni, Hg, Pb, Sn, Cd, Ge) e organometalóides (As, Se, P, Te, Si e Sb) (Olson & Kelly 1986, Klein & Thayer 1990). Estes compostos são extremamente tóxicos e vários são voláteis. A volatilização biológica do mercúrio, por exemplo, é maior em solos arenosos e bastante reduzida em solos com textura argilosa ou ricos em matéria orgânica (Stevenson 1986, Tyler 1981).

4.3. Degradação do solo

O acúmulo de fatores que interferem nos processos biológicos, a perda de matéria orgânica e as alterações físicas promovem a degradação do solo, definida como "declínio da qualidade e da capacidade produtiva do solo causada pelo mau uso do mesmo pelo homem". Dentre as causas da degradação, destacam-se o

desmatamento, a poluição atmosférica (Figura 11), a erosão, declínio da matéria orgânica e perda de estrutura dos solos agrícolas, o pastejo intenso, o acúmulo de fatores tóxicos e a construção civil (US-EPA 1990, Lal & Pierce 1991, World Resources 1992/93).

A degradação do solo é hoje um grande desafio para a humanidade, pois além de forçar a expansão da área cultivada, exerce grande impacto ambiental, provocando queda nas atividades econômicas, instabilidade política e social. Segundo o World Resources (1992/93) existem atualmente aproximadamente 4 bilhões de ha de terra degradada em todo o mundo, sendo 1,2 bilhão degradado por ações antropogênicas desde a última guerra mundial. De acordo com o mesmo relatório, 11% da cobertura vegetal da terra foi degradado pela intervenção humana nos últimos 45 anos. A degradação do solo pode ser física, química e biológica (Lal & Stewart 1989) e resulta de vários mecanismos (Figura 12). Ela exerce grande impacto ambiental, e os organismos e processos biológicos podem servir de indicadores sensíveis das alterações nas condições e na qualidade do solo (Powlson et al. 1987, Kiss et al. 1989, Visser & Parkinson 1992) (Quadro 34).

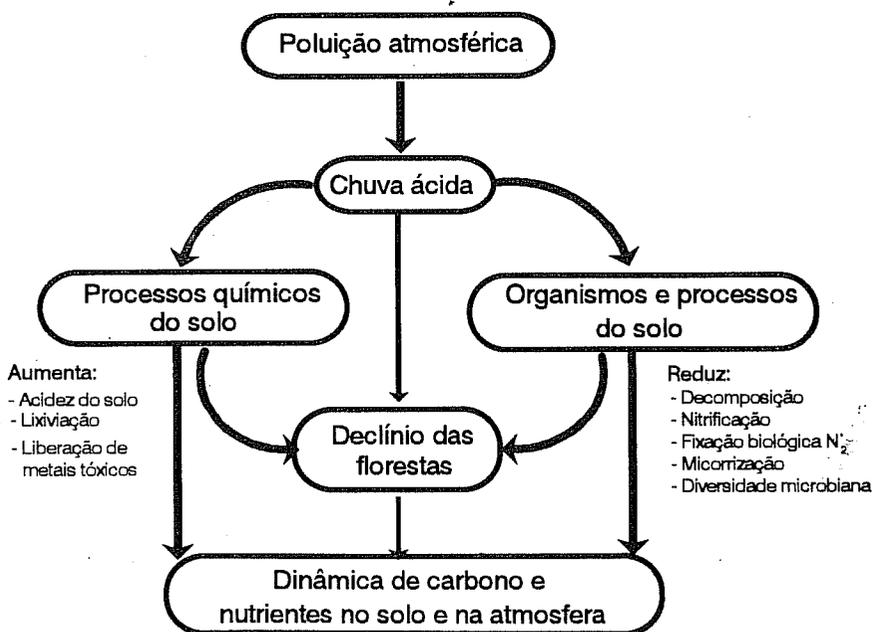


Figura 11. Impacto da poluição atmosférica sobre os processos e organismos do solo (Siqueira1993a).

A degradação causa alterações diversas no solo, sendo as principais:

- a) redução da diversidade e atividade biológica da biota;
- b) alteração na dinâmica e ciclagem dos nutrientes e no fluxo de energia no ecossistema;
- c) acúmulo de compostos poluentes provocados pela queda na taxa de degradação; e
- d) mudanças nas características físico-químicas, como no Eh.

A deteriorização da qualidade ambiental é muito complexa e difícil de ser controlada. A duração do impacto de perturbação ambiental sobre organismos e processos pode variar de poucas semanas a séculos. Na maioria dos casos, esses impactos resultam de ações incontroladas do homem na exploração agrícola, produção industrial e urbanização, e todas estas ações interferem nos processos funcionais do ecossistema. No caso de desmatamento, a degradação resulta da perda de matéria orgânica, de nutrientes e de efeitos da chuva, com impacto nos outros componentes do ecossistema (Sims 1989, Visser & Parkinson 1992). No entanto, os solos degradados podem ser recuperados e se isto ocorrer reduzirá o impacto ambiental de várias maneiras, como redução da expansão do desmatamento e da degradação de outros recursos como fauna, flora e água. A solução para este caso é reduzir o desmatamento, promover o reflorestamento das áreas desmatadas e a sustentabilidade das áreas de produção agrícola.

A acidificação do solo é outra causa da degradação do ecossistema e resulta de processos naturais como o metabolismo microbiano e respiração das raízes, fixação biológica de N_2 e do uso de fertilizantes e lixiviação de bases; e principalmente da precipitação ácida. A chuva ácida é aquela com $pH < 5,7$, provocado pela presença de H_2SO_4 , HNO_3 e HCl . Ela resulta da poluição atmosférica e exerce enorme efeito sobre os processos químicos, sobre os organismos e seus processos no solo (Myrold & Nason 1991), os quais interferem na dinâmica do carbono e nutrientes e provoca o declínio das florestas (Figura 11).

Myrold & Nason (1991) comentam que deposições ácidas de até 12 kg/ha/ano de H^+ exercem pouco efeito na respiração edáfica em necromassas, mas pode interferir na estruturação da pedobiota e outros processos. A redução da micorrização em florestas temperadas tem sido relacionada ao declínio destas florestas induzido pela chuva ácida (Arnolds 1991). Por isto, a chuva ácida contribui para a degradação dos ecossistemas do solo e também para a redução da biodiversidade.

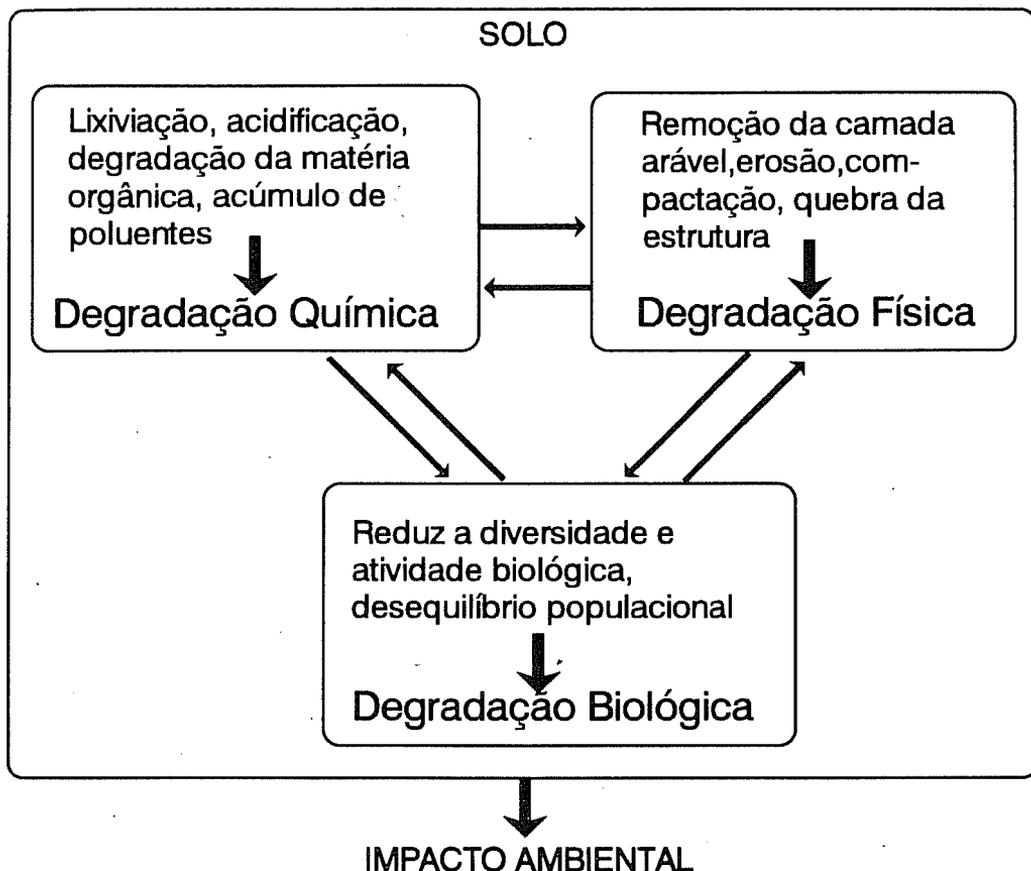


Figura 12. Causas da degradação física, química e biológica do solo.

Quadro 34. Critérios biológicos de avaliação da qualidade do solo (Visser & Parkinson 1992)

Nível de complexidade	Indicadores de qualidade do solo
População	Densidade, biomassa e taxa de reprodução de espécies escolhidas como indicadoras
Comunidade	Estudos sincológicos envolvendo diversidade, ocorrência de espécies, estabilidade da comunidade em tempo e espaço e atributos funcionais
Ecosistema	Processos envolvidos no ciclo dos elementos no solo (taxa de decomposição, fluxo de CO ₂ , C-biomassa, amonificação, nitrificação), atividade enzimica

5. REABILITAÇÃO DE SOLOS DEGRADADOS

5.1. Aspectos gerais

Os conhecimentos científicos e tecnológicos existentes são suficientes para avaliar com precisão os impactos das atividades antropogênicas sobre o meio ambiente e propor ações para reduzir esses impactos, mas são insuficientes para reproduzir a complexidade, biodiversidade e funcionalidade plena de ecossistemas perturbados. No entanto, a integralização de conhecimentos pode favorecer a formação de ecossistemas tecnogênicos funcionalmente ativos e estabilizados. A degradação ambiental provoca a perda da biodiversidade vegetal e microbiana, perda da capacidade produtiva do solo e contaminação dos mananciais e da atmosfera, e o processo de reversão deste quadro é tão complexo quanto caro (Figura 12).

A importância dos microrganismos no funcionamento e na sustentabilidade do ecossistema é amplamente documentada, mas o emprego destes e seus processos nos programas de reabilitação de áreas degradadas é ainda muito limitado. Os microrganismos e suas funções contribuem para reduzir a degradação e são essenciais na reabilitação de solos degradados e no restabelecimento da vegetação de cobertura. Para isto, as condições físicas e químicas do solo devem ser ajustadas através de práticas específicas, como o preparo do solo, uso de corretivos e fertilizantes, pois os solos degradados geralmente apresentam elevada compactação, baixa capacidade de retenção de umidade, elevada temperatura, baixo teor de matéria orgânica e nutrientes, pH inadequado e presença de elementos tóxicos. A revegetação é outra prática de grande importância, pois além de promover a agregação e alteração do microclima do solo, contribui para o aumento da atividade biológica e o restabelecimento da funcionalidade do sistema solo-planta-organismo (Figura 13). Diversos microrganismos apresentam possibilidades de uso em programas de recuperação ambiental (Quadro 35). Os microrganismos contribuem para reduzir a degradação através de seus efeitos benéficos na conservação do solo e da vegetação e da redução da necessidade de agroquímicos como fertilizantes e pesticidas. Solos estéreis ou com baixa atividade biológica sofrem maiores perdas por erosão (Gaspero-Mago & Troech 1979).

Diversos aspectos da atividade microbiana relacionados à produtividade e sustentabilidade do ecossistema já foram comentados. Isto sem dúvida exerce grande influência na conservação ambiental. Agentes de controle biológico, por exemplo, embora de uso ainda restrito (Cook 1993), contribuem para redução no uso de pesticidas, considerados agentes poluidores. Outro aspecto importante é a produção de metabólitos com elevada atividade biológica pelos microrganismos do solo. Tanaka & Omura (1993) comentam as potencialidades de metabólitos microbianos na agricultura. Embora milhares de produtos de origem microbiana tenham sido isolados e identificados, poucos têm sido usados na substituição de xenobióticos recalcitrantes.

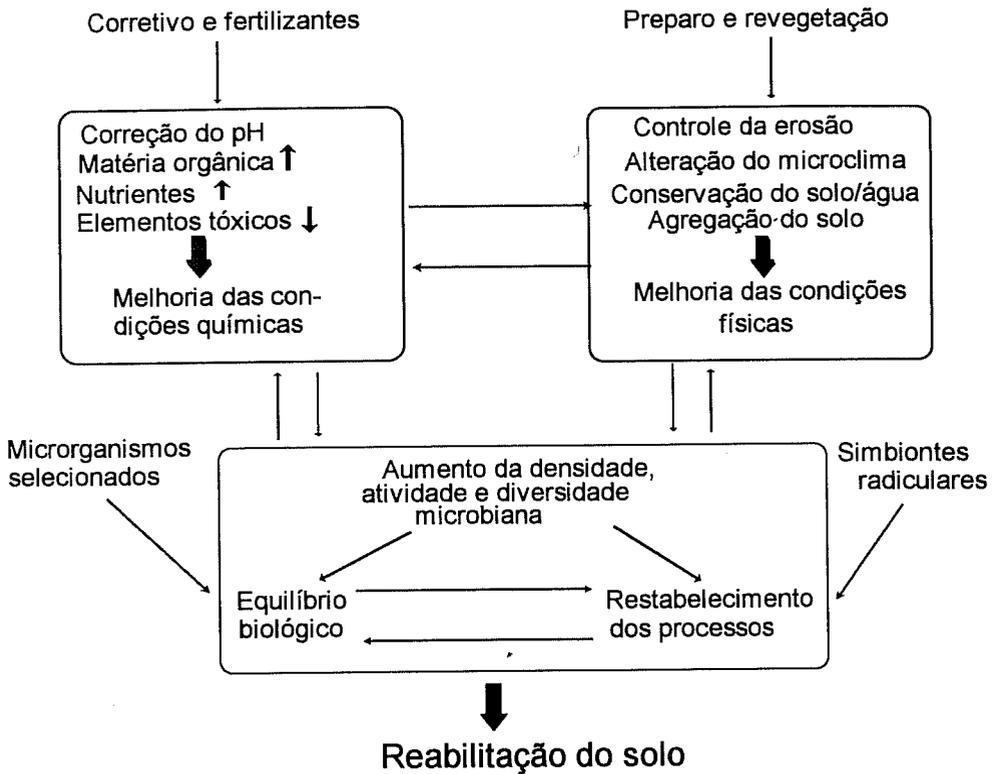


Figura 13. Principais procedimentos para reabilitação de solos degradados e as interações entre os processos físicos, químicos e biológicos.

Desses, destacam-se os metabólitos produzidos pelos actinomicetos, tais como as avermectinas - biocidas naturais de largo espectro empregados na agricultura e pecuária.

O restabelecimento da comunidade rizosférica e das relações mutualistas com as raízes tem papel crucial na dinâmica de C no solo (Newman 1978, Raich & Nadelhoffer 1989, Perry & Amaranthus 1990), na sobrevivência de espécies e na estruturação das comunidades vegetais. Alguns aspectos de influência das raízes sobre os processos químicos, físicos e biológicos do solo encontram-se resumidos no Quadro 8. Assim, a presença de plantas no processo de recuperação de áreas degradadas contribui para a incorporação de C-CO₂, via fotossíntese, ao solo, favorecendo a atividade microbiana e a agregação do solo e permitindo a formação de simbioses radiculares, que resultam em melhoria nutricional e tolerância da planta hospedeira a estresses diversos. As simbioses radiculares com potencialidade na recuperação de áreas degradadas serão abordadas a seguir.

Quadro 35. Microrganismos com possibilidade de utilização na reabilitação de solo degradado.

Microrganismo	Principais aspectos relacionados com a reabilitação
Rizóbio	Fornecimento de nitrogênio, uso limitado em certas leguminosas, embora o N possa ser transferido para outras espécies que crescem associadas
<i>Frankia</i>	Fornecimento de nitrogênio. Poucas espécies hospedeiras, mas com várias famílias. Faltam inóculos comerciais.
Diazotróficos de vida livre	Fornecimento de nitrogênio, tecnologia pouco desenvolvida. Faltam inóculos.
Bactérias promotoras de crescimento	Vários benefícios à planta hospedeira; tecnologia ainda pouco desenvolvida.
Fungos ectomicorrízicos	Favorecem a nutrição e estruturação da comunidade; ciclagem dos nutrientes, tecnologia disponível. Poucos hospedeiros.
Fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares	Favorecem a nutrição e estruturação da comunidade; estabelecem-se na grande maioria da espécies vegetais, tecnologia em desenvolvimento; influenciam a sucessão.
Agentes de controle biológico	Fungos e bactérias antagonistas e entomopatógenos reduzem o uso de pesticidas. Aplicação ainda muito limitada.
Agentes agregantes do solo	Melhoram as condições físicas e reduzem as perdas de solo; favorecem a reestruturação do solo. Uso muito limitado.
Autotróficos (microalgas)	Incorporam carbono orgânico, favorecem a agregação. Ainda sem uso.
Biorremediadores (heterotróficos)	Promovem a destoxificação de solos contaminados, tecnologia em expansão.

5.2. Fixação biológica de N₂ atmosférico

Considerações gerais

A fixação biológica de N₂ (FBN) é o segundo processo biológico mais importante da vida no planeta, pois é através dele que o grande reservatório de N₂, que constitui 80% dos gases da atmosfera, pode se tornar disponível em formas assimiláveis para os reinos vegetal e animal (Brill 1977). Os adubos nitrogenados representam outra importante fonte de N' em formas assimiláveis para as plantas. Eles podem ser obtidos de reservas naturais não-renováveis, como o salitre do Chile, ou através da fixação industrial do N₂ atmosférico; p.ex., pelo processo Haber-Bosch. Na síntese química dos fertilizantes nitrogenados são empregadas altas

temperaturas e pressões, obtidas a partir de derivados de petróleo, para quebrar a tripla ligação do N_2 , o que os torna os adubos mais caros do mercado. Para a síntese de 1 tonelada de amônia são gastos 6 barris de petróleo e, como já foi mencionado, os adubos nitrogenados aplicados ao solo não são completamente absorvidos pela cultura. A desnitrificação, nitrificação e lixiviação são processos que provocam não só sua perda, mas também podem causar danos ecológicos como a eutroficação e a contaminação de mananciais.

Além das vantagens ecológicas, um exemplo da economia conseguida por esse processo biológico é o da soja. Muitos estudos foram conduzidos no Brasil desde a introdução dessa cultura, tornando a simbiose bastante eficiente e resultando em grande economia para o País pela não utilização de fertilizantes nitrogenados. Para alcançar produtividades de 2.500 kg/ha, a soja absorve cerca de 200 kg/ha de N, dos quais 67% a 75% são alocados nas sementes. Devido à baixa eficiência de utilização dos fertilizantes nitrogenados, normalmente inferior a 50%, pois há perdas por lixiviação, nitrificação e desnitrificação, seriam necessários 300 a 400 kg/ha de N para obter essa produtividade; portanto, um custo certamente proibitivo para os agricultores. Utilizando-se os dados do setor de economia da EMBRAPA-CNPSo, com estimativa de área coletada de 11.350.000 ha, na safra de 1993/94, e produtividade média de 2.156 kg/ha, e considerando-se que a recomendação atual para essa cultura é de utilização de inoculação sem a suplementação de qualquer fonte de fertilizante nitrogenado, calcula-se que o País economize hoje cerca de 1 bilhão de dólares por causa da inoculação na soja (Hungria et al. 1994b). Nos Estados Unidos, Tauer (1989) estimou que os benefícios econômicos obtidos com avanços tecnológicos na FBN em cinco cenários futuros poderiam representar benefícios anuais de US\$ 1.067 milhões a US\$ 4.484 milhões.

A FBN consiste da redução do N_2 molecular para NH_3 através da nitrogenase, enzima de ocorrência restrita a algumas espécies do reino Protista e com representantes nos grupos das bactérias (aeróbias, anaeróbias e facultativas), actinomicetos (*Frankia* spp.) e cianobactérias. A FBN é um processo regulado pelas necessidades do ambiente e das espécies fixadoras, ou seja, não há fixação de N_2 em excesso. Em áreas não perturbadas, com vegetação clímax, esse processo biológico não é limitante. Também em áreas áridas, frias ou fracamente ensolaradas, a água, temperatura ou luz limitam a produtividade biológica. Mas em áreas perturbadas e ainda férteis, a introdução do N através da fixação biológica geralmente limita a produtividade. Esses locais incluem as áreas agrícolas, áreas onde as florestas clímax foram perturbadas e replantadas e áreas perturbadas por desastres naturais, como o fogo (Postgate & Hill 1979).

A energia consumida durante o processo de fixação do N_2 , na forma de ATP, provém da fotossíntese da planta hospedeira. Estima-se que cerca de 30% dos fotossintatos da planta são utilizados na manutenção do processo (Minchin et al.

1981, Saari & Ludden 1986, Neves & Hungria 1987, Hungria et al. 1994b), representando até 5% da energia da fotossíntese do planeta consumidos no processo de FBN pelas leguminosas. Microrganismos fixadores de N₂ (MFN) estão presentes nos mais diversos tipos de habitats e ecossistemas terrestres e aquáticos, e alguns deles ainda estabelecem simbiose com certas espécies de fungos, insetos e plantas. De todas as simbioses, as associações de rizóbio com espécies da família Leguminosae são as mais importantes em termos ecológicos e econômicos (Long 1989, Hungria 1994, Cattelan & Hungria 1994, Hungria et al. 1994b).

Microrganismos e sistemas fixadores de N₂

Estimativas da FBN na terra mostram que as leguminosas contribuem com uma parcela significativa da FBN total (Quadro 36). As simbioses de leguminosas com rizóbio têm um papel de destaque. Hoje existem diversas espécies de rizóbio, classificadas de acordo com características genéticas, fisiológicas, morfológicas e bioquímicas. As estirpes que apresentam crescimento rápido em meio de cultura são classificadas no gênero *Rhizobium*, e as espécies e principais plantas hospedeiras (entre parênteses) são: *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* (ervilha), *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* (trevo), *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, *Rhizobium etli* e *Rhizobium tropici* (feijão), *Rhizobium meliloti* (alfafa), *Rhizobium loti* (cornichão), *Rhizobium fredii* (soja primitiva), *Rhizobium galegae* (galega), *Rhizobium* sp. NGR234 (mais de 30 gêneros de leguminosas tropicais e temperadas e a não-leguminosa *Parasponia*), *Rhizobium huakuii* (astrágalo). Outro gênero, *Bradyrhizobium*, inclui bactérias que apresentam crescimento lento em meio de cultura, como as espécies *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* (soja), *Bradyrhizobium* sp. (paraspônia) e *Bradyrhizobium* sp. (caupi, tremoço, amendoim). O terceiro gênero, *Azorhizobium*, com a espécie *A. caulinodans*, inclui bactérias que nodulam o caule e a raiz de sesbânia, e são capazes de fixar N₂ em meio de cultura. Todas essas bactérias têm sido tradicionalmente colocadas no reino Procaryotae e na família Rhizobiaceae, mas em classificações filogenéticas baseadas em técnicas moleculares elas estão posicionadas como Proteobacteria na subdivisão Alpha (Young 1992). Do mesmo modo, uma corrente de taxonomistas classifica plantas hospedeiras como a soja e o feijão na família Fabaceae (Delorit & Gunn 1986).

A descrição de novas espécies de rizóbio continua e, nos últimos anos, tivemos estudos em *R. huakuii*, *R. etli*, *R. tropici* e *R. galegae*. Algumas vezes, bactérias com características interessantes são descritas. Como exemplo, tem-se que um rizóbio isolado dos nódulos do caule de *Aeschynomene indica*, uma leguminosa comum em solos alagados, apresenta propriedades fotossintéticas. Essa bactéria sintetiza bacterioclorofila *a*, forma centros de reações fotossintéticas e é capaz de fixar ¹⁴CO₂ *in vitro* e *in vivo* (Eaglesham et al. 1990, Hungria et al. 1992, 1993b).

Quadro 36. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico e fluxo anual de N em termos globais (Keeney 1982, Paul 1988, Craswell 1990).

Fonte de fixação	x 10 ⁶ toneladas/ano
Industrial (fertilizantes)	49
Atmosférica (eletroquímica)	10
Outros processos químicos	35
Fixação biológica total	170
- Sistemas simbióticos	50
- Total dos sistemas terrestres	139
Leguminosas	35
- Árvores (100-300 kg/ha/ano)	
- Grãos (40-240 kg/ha/ano)	
- Pastagens (10-280 kg/ha/ano)	
- Adubação verde (100-360 kg/ha/ano)	
Cultura do arroz (10-80 kg/ha/ano)	4
Pastagens (15 kg/ha/ano)	45
Outra culturas (5 kg/ha/ano)	5
Ecossistemas florestais (10 kg/ha/ano)	5
Outros ecossistemas (2 kg/ha/ano)	10
Quantidade de N no solo	105.000
Absorção total de N	1.400
N mineralizado	3.500
N desnitrificado	135
N perdido por erosão/lixiviação	85

O fato de essa bactéria viver em solos alagados, pobres em C e N, pode indicar que esse foi um mecanismo evolutivo para permitir a sobrevivência dessas bactérias. No Pantanal Mato-grossense, onde essa leguminosa prolifera abundantemente e representa uma fonte protéica importante para o gado, também foram isoladas inúmeras estirpes de rizóbio com características fotossintéticas, e que provavelmente permitirão a descrição de uma nova espécie (Loureiro et al. 1993). Estudos taxonômicos com os microssimbiontes, assim como seus modos de infecção no hospedeiro (Moreira et al. 1993, Faria 1988), também acrescentaram informações inéditas da FBN nas leguminosas, que poderão ser utilizadas no manejo do processo com fins ecológicos e econômicos.

Na Floresta Amazônica, a família Leguminosae apresenta a maior diversidade de espécies e alta frequência de número de indivíduos em relação a outras famílias botânicas (Ducke 1949). Como muitas destas espécies são nodulíferas (Moreira et al. 1992), a contribuição das simbioses de leguminosas com rizóbio na floresta amazônica deve também ser significativa.

Mesmo em outros ecossistemas, como no Cerrado (Kirkbride-Júnior 1984), ou em áreas onde o desmatamento tem sido intensificado nas últimas décadas, como na Mata Atlântica brasileira, as leguminosas ainda representam uma parcela significativa da flora nativa remanescente (Oliveira Filho et al. 1994), apesar do extrativismo seletivo de várias espécies madeireiras importantes economicamente, como o pau-pereira (*Platycamus regnellii*), braúna (*Melanoxylon braunia*) e jacarandá (*Dalbergia nigra*), entre outras.

Apesar da importância das simbioses com leguminosas, até 1981, apenas 15% das 18.000 espécies da família Leguminosae haviam sido estudadas no tocante a sua capacidade de nodular, isto é, de formar simbiose com rizóbio (Allen & Allen, 1981). A grande maioria das espécies florestais, principalmente as tropicais, representadas por 1.221 espécies só na Amazônia (Silva et al. 1989), não tinham qualquer referência sobre sua capacidade de formar simbioses. Na última década, foi intensificado o estudo de espécies florestais tropicais que abrangem grande parte dos grupos de divergência das três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae.

Estudos da capacidade nodulífera em leguminosas da Amazônia e Mata Atlântica revelaram a capacidade de nodular de 210 espécies e 25 gêneros que ainda não haviam sido pesquisados com relação a esta característica (Quadro 37). Estes resultados confirmam a maior frequência de espécies nodulíferas nas subfamílias Mimosoideae (90%) e Papilionoideae (97%) e maior incidência de espécies não-nodulíferas nas Caesalpinioideae (77%) (Sutherland & Sprent 1993). Deve-se salientar que, entre as espécies não-nodulíferas, existem várias de importância econômica e ecológica, sendo algumas bem conhecidas (Quadro 38).

Quadro 37. Situação atual do número de espécies e gêneros de leguminosas florestais brasileiras com capacidade de nodular.

Subfamília	Capacidade de nodular				Proporção de espécies nodulíferas
	Positiva		Negativa		
	N≡ espécies	N≡ gêneros	N≡ espécies	N≡ gêneros	
Caesalpinioideae	27	5	96	7	22%
Mimosoideae	78	8	29	3	73%
Papilionoideae	105	12	51	11	67%
Total	210	25	176	21	54%

Fonte: Vasconcelos & Almeida (1979/80), Sylvester-Bradley et al. (1980), Magalhães et al. (1982), Faria et al. (1984a,b), Magalhães & Fernandes (1984), Magalhães (1986), Matos (1986), Magalhães & Silva (1986/87), Faria et al. (1987, 1989), Moreira et al. (1992), Souza et al. (no prelo).

Quadro 38. Algumas espécies de leguminosas arbóreas não nodulíferas de importância econômica e aspectos de adaptação ambiental.

Espécies	Uso*	Características de adaptação ambiental
<i>Bauhinia</i> spp. (várias denominadas unha-de-vaca)	3,5	Nativas de solos ácidos
<i>Caesalpineia</i> spp. <i>C. echinata</i> (pau-brasil) <i>C. ferrea</i> (pau-ferro, jucá) <i>C. peltophoroides</i> (sibipiruna) <i>C. pulcherrima</i>	3,4,5,6	Nativas de solos ácidos
<i>Cassia</i> spp. <i>C. grandis</i> <i>C. (Senna) multijuga</i> <i>C. fastuosa</i> <i>C. fistula</i> (chuva-de-ouro)	2,3,5,6	Nativas de solo ácidos, toleram solos com problemas de drenagem ou inundados (<i>C. grandis</i>)
<i>Copaifera</i> spp. <i>C. multijuga</i> e <i>C. langsdorffii</i> (copaibas)	2,4,5	Nativas de solos ácidos *
<i>Delonix regia</i> (flamboyant)	3	-
<i>Hymenaea courbaril</i>	4,5,6	Nativa de solos ácidos
<i>Mora paraensis</i>	4,5	Nativa de solos ácidos, tolera solos com problemas de drenagem
<i>Parkia</i> spp. <i>P. multijuga</i> , <i>P. nitida</i> <i>P. pendula</i>	3,4,5,6	Nativas de solos ácidos
<i>Schizolobium</i> spp. <i>S. parahibum</i> , <i>S. amazonicum</i>	1,3,4,5	Nativas de solos ácidos, pioneira (<i>S. amazonicum</i>)

* 1 - Celulose e papel; 2 - lenha e carvão; 3 - ornamental; 4 - madeira para serraria, construção civil e postes; 5 - produtos fitoquímicos medicinais, aromáticos e industriais; 6 - outros: sombreamentos, cercas-vivas, flora apícola, alimentação humana e animal.

Fonte: Duke (1949), Prance & Silva (1975), Loureiro et al. (1979), Van den Berg et al. (1986), Van den Berg & Silva (1986), Ribeiro et al. (1987), Moreira & Franco 1991).

Leguminosas arbóreas fixadoras de N_2 e adaptadas às condições climáticas e edáficas tropicais podem desempenhar papel importante em sistemas agrícolas, agroflorestais ou agrossilvipastoris, seja por seu próprio potencial de utilização econômica (madeira, celulose e papel, carvão, etc.) (Quadro 39), seja pela contribuição do N fixado ao ecossistema, que pode ser aproveitado pelas culturas consorciadas e tornar o sistema auto-sustentável com relação a este elemento (Budowski et al. 1984, Hussain et al. 1988, Parrotta 1992, Sanginga 1992). Sistemas agroflorestais podem manter a matéria orgânica do solo e promover a ciclagem de nutrientes, principalmente quando as árvores são podadas periodicamente (Beer 1988). Quando leguminosas arbóreas fixadoras de N_2 são utilizadas nestes sistemas, ocorre adição de resíduos orgânicos com baixa relação C:N, que podem aumentar o C e N totais e microbianos e a umidade do solo (Mazzarino et al. 1993). Considerando-se que a melhoria das propriedades físicas e químicas dos solos estão estreitamente relacionadas com matéria orgânica e biomassa microbiana, é evidente a importância de leguminosas fixadoras de N_2 na recuperação de solos degradados. Vários estudos têm demonstrado que o plantio de leguminosas pode reverter processos de degradação do solo (Parrotta 1992). Os efeitos do plantio de leguminosas não estão limitados apenas ao aumento da matéria orgânica e da concentração de nitrogênio no solo e na vegetação, mas também ao desenvolvimento de extensivo sistema radicular, melhoria do estado nutricional e aumento da diversidade de espécies vegetais sob o dossel e de espécies microbianas do solo, entre outros (Maschio et al. 1992, Hungria et al. 1994a).

A FBN é também de ocorrência generalizada nas leguminosas herbáceas, que podem ser utilizadas em diversos sistemas de exploração agrícola, como produtoras de grãos, forrageiras, adubação verde, consorciação, rotação de culturas e como cobertura de solo na entressafra, contribuindo de modo significativo para a manutenção da MOS no solo e para a sustentabilidade. Certas espécies, pela sua elevada rusticidade, como *Stylosanthes* spp., podem ser utilizadas em programas de revegetação e recuperação de áreas degradadas. No entanto, as leguminosas arbóreas nodulíferas apresentam maior potencial em programas de recuperação, pois além de perenes permitem a recuperação do solo e algum retorno econômico, como a produção de madeira, carvão, forragem e outros.

Outro aspecto a ser considerado é o da interação sinérgica entre fungos MVA e rizóbio, já constatada também em leguminosas arbóreas (Barea & Azcon-Aguilar 1983) ou com outras espécies de MFN, como *Acetobacter diazotrophicus* (Paula et al. 1992), e que podem aumentar o potencial de sustentabilidade em ecossistemas agrícolas com a utilização desses processos biológicos. Tanto a sobrevivência como a biomassa de espécies florestais podem ser incrementadas através da inoculação com rizóbio (Döbereiner 1967) e/ou fungos micorrízicos, inclusive na recuperação de ecossistemas degradados e na conservação do solo (Franco et al. 1992a,b, Herrera et al. 1993, Miller & Jastrow 1992a,b).

Quadro 39. Usos potenciais de algumas espécies de leguminosas arbóreas fixadoras de N₂ (nodulíferas) e aspectos de adaptação ambiental.

Espécies	Uso ambiental*	Características de adaptação
<i>Acacia</i> spp. <i>A. auriculiformis</i> , <i>A. mangium</i> <i>A. senegal</i> e <i>A. polyphylla</i>	1,2,3,4,5,6,	Solos ácidos, tolerância à seca (<i>A. senegal</i>), ou solos com problemas de drenagem (<i>A. polyphylla</i>)
<i>Albizia</i> spp. <i>A. guachapelle</i> , <i>A. lebecck</i> , <i>A. saman</i>	2,3,6	Solos ácidos
<i>Andira inermis</i>	2,5,6	Nativa de solos ácidos
<i>Calliandra calothyrsus</i>	2,3,6	Solos ácidos
<i>Cedrelinga catenaeformis</i>	4,5	Solos ácidos e de baixa fertilidade
<i>Clitoria fairchildiana</i>	2,6	Solos ácidos e com problemas de drenagem
<i>Dalbergia nigra</i>	4	Nativa de solos ácidos
<i>Diploptropis purpurea</i>	4,5	Nativa de solos ácidos
<i>Enterolobium</i> spp.	2,4,6	Solos ácidos
<i>Erythrina</i> spp. <i>E. fusca</i> , <i>E. poeppigiana</i>	6	Nativas de solos ácidos e com problemas de drenagem
<i>Gliricidia sepium</i>	2,6	Solos ligeiramente ácidos
<i>Inga</i> spp. <i>I. edulis</i> , <i>I. calantha</i> <i>I. ingoides</i> , <i>I. marginata</i>	2,3,5,6	Solos ácidos e com problemas de drenagem (<i>I. marginata</i> , <i>I. ingoides</i>)
<i>Leucaena leucocephala</i>	2,6	Solos neutros
<i>Mimosa</i> spp. <i>M. bimucromata</i> , <i>M. caesalpiniaefolia</i> , <i>M. floclulosa</i> , <i>M. scabrella</i> , <i>M. tenuiflora</i>	2,6	Solos ácidos, neutros (<i>M. tenuiflora</i>) ou com problemas de drenagem (<i>M. bimucromata</i>)
<i>Paraserianthes falcataria</i>	1,2,5	Solos ácidos
<i>Pentaclethra macroloba</i>	2,6	Solos ácidos encharcados
<i>Platymiscium ulei</i>	4	Idem <i>P. macroloba</i>
<i>Sesbania grandiflora</i>	2,5,6	Idem <i>P. macroloba</i>
<i>Sryphnodendron guianense</i>	1,4	Nativa de solos ácidos
<i>Swartzia laeviscarpa</i>	4	Idem <i>P. macroloba</i>

* 1 - Celulose e papel; 2 - lenha e carvão; 3 - ornamental; 4 - madeira para serraria, construção civil e postes; 5 - produtos fitoquímicos medicinais, aromáticos e industriais; 6 - outros: sobreamento, cercas-vivas, flora apícola, alimentação humana e animal.

Fonte: Ducke (1949), Prance & Silva (1975), Loureiro et al. (1979), Magalhães & Blum (1984), Budowski et al. (1984), FAO (1986), Van den Berg et al. (1986), Ribeiro et al. (1987), Frando et al. (1992a).

Em termos econômicos, porém, não restam dúvidas de que as simbioses mais importantes no Brasil são as das culturas da soja, feijão, ervilha e forrageiras, nas quais a prática da inoculação pode trazer muitos benefícios. No caso da soja, os solos do Brasil não possuem *Bradyrhizobium* nativo e, por isso, as respostas à inoculação em áreas não cultivadas são sempre positivas. Graças à tecnologia que permite o cultivo da soja em diversas latitudes pode-se observar, na Região Norte, que a inoculação em um solo isento de *Bradyrhizobium* resultou em aumento de rendimento de 239 para 2.533 kg/ha (Oliveira et al. 1992). Nos solos sob vegetação de Cerrado, as respostas à inoculação também são bastante significativas no primeiro ano de cultivo (Vargas & Suhet 1980 a,b, Vargas et al. 1982a,b). Após sete anos de experimentação com as estirpes CPAC 15 e CPAC 7, por exemplo, Peres et al. (1993) observaram ganhos médios de 260 kg/ha. Também em solos de primeiro ano de cultivo no Rio Grande do Sul, a inoculação incrementou o rendimento em quase seis vezes (Kolling et al. 1990).

Hoje em dia, porém, restam poucas áreas que ainda não foram inoculadas, e a população de rizóbio naturalizada dos solos às vezes é bastante elevada. A maioria dos produtores de soja não pratica a reinoculação, principalmente pela falta de informações sobre os resultados que podem ser obtidos. No Cerrado, em experimentos conduzidos durante três safras, somente na primeira safra não houve efeito benéfico da reinoculação. Nos três experimentos que tenderam a responder à reinoculação, os ganhos variaram de 80 a 291 kg/ha, correspondendo a incremento na produtividade de 4 a 12,5% (Vargas et al. 1992b). Em um solo no Paraná com população estabelecida de $2,21 \cdot 10^5$ células/g de solo, respostas positivas à inoculação foram obtidas por Nishi & Hungria (1993). No solo em estudo não havia predominância de nenhum sorogrupo, e todas as estirpes introduzidas foram capazes de ocupar, em média, 50% dos nódulos das plantas, representando incremento de 140% em relação à testemunha não inoculada e aumento de produtividade de 400 kg/ha.. Em continuação a esse mesmo experimento pode-se observar, ainda, que quando o trigo cv. BR-23 foi plantado em parcelas que haviam sido inoculadas, o rendimento e teor de N dos grãos foram superiores nos tratamentos que haviam apresentado o melhor desempenho simbiótico na safra anterior. Desse modo, o trigo plantado nas parcelas que haviam sido inoculadas com a estirpe SEMIA 5019 produziu 396 kg/ha a mais do que nas parcelas sem inoculação, mostrando que a inoculação da soja deixou mais N no solo para a cultura seguinte.

A compilação de diversos trabalhos que compararam o efeito da inoculação com o da adubação nitrogenada mostra que esta última não traz qualquer vantagem à cultura da soja (Hungria et al. 1994b). No Paraná, por exemplo, a produção da soja adubada com até 400 kg/ha de N (uréia), parcelados em duas ou dez vezes, foi inferior à do tratamento com inoculação (Nishi & Hungria 1993). Apesar dos benefícios indiscutíveis, porém, poucos agricultores utilizam a inoculação, mesmo

nas culturas mais importantes economicamente. Segundo dados da Associação Nacional dos Produtores de Inoculante, cerca de 25% dos sojicultores e apenas 3% dos que plantam feijão introduzem bactérias nas sementes. Além da difusão dessa tecnologia, muitos estudos estão sendo conduzidos para aumentar a eficiência dessas simbioses. Pode-se citar, no caso da soja, a seleção de cultivares com maior potencial de fixação, por meio de marcadores moleculares (Bohrer & et al. 1994), estirpes e mutantes mais eficientes e competitivos (Nishi & Hungria 1993, 1994, Araújo & Hungria 1994, Boddey et al. 1994), seleção e avaliação de novos microsimbiontes (Chueire & Hungria 1994, Brandão-Jr. & Hungria 1994) e estudos de auto-sustentabilidade em sistemas de rotação e sucessão de culturas (Andrade et al. 1993a). No caso do feijão, também existem estirpes e cultivares mais promissoras (Hungria & Neves 1987, Barradas & Hungria 1989, Boddey & Hungria 1990).

Excetuando-se os gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*, e algumas espécies de *Beijerinckia*, que formam nódulos na filosfera, um vasto número de espécies bacterianas fixadoras de N₂ não formam simbioses. Estas ocorrem, geralmente, em maiores números na rizosfera de várias espécies vegetais, mas podem também ser isoladas do interior de raízes e até mesmo do caule (Döbereiner & Day 1974). A algumas espécies, como *Azospirillum* spp., *Azotobacter paspali* e *Acetobacter diazotrophicus*, é atribuído um tipo de simbiose primitiva denominada "associação", de ocorrência generalizada em gramíneas forrageiras (Boddey 1987), em outras monocotiledôneas de grãos e na cana-de-açúcar. A contribuição da FBN nestes sistemas foi demonstrada por técnicas que utilizam ¹⁵N, hoje amplamente utilizadas (Boddey 1987). Devido às perdas decorrentes da interferência de fatores químicos, físicos e biológicos, esta contribuição não é tão significativa como nas simbioses do rizóbio, e situa-se geralmente em 20 a 45 kg/ha/ano de N (Boddey 1987). Mas quando se consideram a vasta extensão de áreas cobertas por gramíneas forrageiras e de grãos, além da cana-de-açúcar, e a sua importância na produção de alimentos, de álcool e combustível, esta pequena contribuição se torna significativa em termos globais (Quadro 36).

Diferenças no potencial de FBN entre genótipos da mesma espécie (Bullow & Döbereiner 1975) podem ser utilizadas para maximizar a FBN no campo. Em cana-de-açúcar foi demonstrado que na cultivar CB4789, a FBN pode contribuir com 60% do nitrogênio necessário para o desenvolvimento vegetal (Lima et al. 1987), podendo atingir a fixação de até 270 kg/ha de N (J. Döbereiner, Comunicação Pessoal). Embora vários diazotróficos tenham sido isolados de cana-de-açúcar (Boddey et al. 1991), nenhum deles parece ocorrer em números expressivos como os de *Acetobacter diazotrophicus* (Cavalcante & Döbereiner 1988), que também possui características únicas, como crescimento em altas concentrações de sacarose e sais, tolerância a baixos valores de pH e utilização de etanol, indicando sua adaptação ao microambiente desta cultura (Boddey et al. 1991).

Além da fixação de nitrogênio, outros efeitos na nutrição vegetal são atribuídos a diazotróficas não-simbióticas, como o aumento na absorção de nutrientes e água. Reguladores do crescimento vegetal são produzidos por *Azospirillum* em cultura, mas não existem evidências diretas de que respostas da produção à inoculação sob condições de campo são resultantes de substâncias promotoras de crescimento (Sumner 1990). No caso da mandioca, porém, resultados expressivos com a inoculação de *Klebsiella* spp. e de uma bactéria não identificada, chamada de bactéria E, têm sido obtidos, além de confirmado que elas produzem ácido indolacético (Balota et al. 1994).

O manejo da FBN em gramíneas com fins econômicos ainda é dificultado pelo fato de que os vários experimentos realizados em condições de campo nem sempre obtiveram aumentos de produção decorrentes da inoculação. A imprevisibilidade dessas respostas pode ser atribuída à combinação inapropriada das espécies vegetais e estirpes bacterianas ou às condições externas (fatores limitantes), que preveniram a expressão do efeito (Sumner, 1990). Deste modo, os próximos passos da pesquisa nesta área devem considerar a seleção de estirpes apropriadas e a correção dos fatores edáficos limitantes à FBN, não só para a variedade da espécie vegetal pesquisada, mas também para condições climáticas e edáficas específicas.

Outras simbioses importantes, mas relativamente pouco estudadas, são as do actinomiceto *Frankia* com algumas espécies de oito famílias botânicas (Bond & Wheeler 1980). Embora o primeiro isolamento de rizóbio tenha sido realizado há um século (Beijerinck 1888), *Frankia* foi isolado pela primeira vez em 1978 (Callaham et al. 1978) e ainda hoje seu isolamento e cultivo não são tão bem sucedidos como os de rizóbio, o que dificulta a produção de inoculante comercial. No entanto, estas simbioses têm grande potencial econômico, pois a maioria das espécies vegetais hospedeiras são colonizadoras agressivas capazes de se regenerarem em solos pobres e degradados, e algumas delas, como *Casuarina* spp., apresentam crescimento rápido e produzem madeira e lenha (Gauthier et al. 1984). Estimativas da fixação de nitrogênio em algumas espécies indicam taxas de até 250 kg/ha/ano de N (Rodrigues et al. 1985).

A fixação biológica de N₂ por cianobactérias de vida livre é bastante expressiva em termos globais, nos ecossistemas aquáticos (Quadro 36). Nos ecossistemas agrícolas, as simbioses de *Anabaena* com espécies da pterodófito *Azolla* se destacam por sua importância econômica e alto potencial em fixar N₂. A utilização de *Azolla* spp. como adubo verde ou em consórcio com arroz irrigado é uma prática antiga e muito difundida em países asiáticos. Atualmente é alta a disponibilidade de tecnologia de utilização desta simbiose na cultura do arroz (Watanabe & Chung-Chu 1990). Ganhos de 80 a 840 kg/ha de N na simbiose *Azolla*-*Anabaena* podem ser obtidos através do manejo deste sistema biológico (Nierzwicki-Bauer 1990).

A maximização da FBN pode ser obtida não apenas pelo melhoramento das características intrínsecas aos sistemas fixadores, o que inclui a utilização de técnicas avançadas da biologia molecular (Gresshoff 1990), mas também pela eliminação de fatores limitantes à completa expressão de sua potencialidade atual, como, por exemplo, acidez do solo, toxicidade de alumínio, deficiência de macro e micronutrientes, compactação do solo, etc. No entanto, é possível obter sistemas fixadores de nitrogênio adaptados a alguns desses estresses, como acidez (Chen et al. 1993) e toxicidade de alumínio (Lesuer et al. 1993), os quais são de grande interesse na recuperação ambiental.

A diversidade de sistemas biológicos fixadores simbióticos e assimbióticos de N_2 oferece um vasto campo de estudos que visem à sustentabilidade de sistemas agrícolas e silviculturais e à regeneração de ecossistemas florestais. A substituição total ou parcial de adubos nitrogenados por FBN reveste-se de grande importância ecológica, ambiental e econômica, e tem hoje maiores perspectivas com o uso de sistemas fixadores de nitrogênio atmosférico, notadamente as simbioses de rizóbio com leguminosas, por tecnologias de aplicação prática e comprovada eficiência, através do uso de inoculantes comerciais, produzidos a partir de culturas de estirpes selecionadas (Singleton et al. 1992). Porém, mesmo nesses sistemas, ainda é necessário o estabelecimento de uma prática mais generalizada. O desenvolvimento e a difusão de tecnologias de outras simbioses, como *Frankia* e *Anabaena*, por exemplo, e de sistemas associativos, como os das gramíneas, estenderiam a utilização da FBN para ecossistemas diversos, tornando possível a completa substituição dos adubos nitrogenados. É de interesse especial a FBN na cana-de-açúcar, atualmente matéria-prima de importante fonte energética do País. O álcool é uma alternativa muito eficiente do ponto de vista ambiental porque emite menos poluentes (gases Pb, CO_2 e hidrocarbonetos) e é uma fonte renovável, que recicla eficientemente o CO_2 e utiliza a energia solar e o N_2 atmosférico via fixação biológica, o que reduz os custos de produção e evita o uso de fertilizantes nitrogenados, que não são renováveis e podem ser poluentes.

No campo da genética, é possível também que, em breve, perspectivas promissoras se concretizem, dado o avanço nos estudos de manipulação do microssimbionte e da planta hospedeira. Já se tem grande conhecimento, hoje, dos sinais moleculares que funcionam como “linguagem” entre a bactéria e o hospedeiro, e que ocorrem nos estádios de pré-infecção. Na primeira etapa, cada espécie de leguminosa libera um grupo de sinais, que foram identificados como flavonóides. Essas moléculas ativam a transcrição dos genes da nodulação do rizóbio, que produz então outras moléculas, identificadas como lipo-oligossacarídeos. Essas moléculas causam mudanças no fenótipo das raízes, que são essenciais ao processo da nodulação. Com o domínio dessa linguagem, já é possível conseguir nódulos

nodulação. Com o domínio dessa linguagem, já é possível conseguir nódulos perfeitos em sua estrutura, mas formados na ausência do rizóbio. Esses conhecimentos também têm sido aplicados nos estudos que procuram resolver o problema de competitividade das estirpes. Os estudos dessa sinalização foram recentemente revisados por Hungria (1994).

5.3. Micorrizas

Aspectos gerais

As micorrizas (associações simbióticas entre fungos e raízes) são de ocorrência generalizada na maioria dos ecossistemas terrestres. Elas co-evoluíram com as plantas e sua origem deu-se por volta de 462 a 352 milhões de anos atrás, conforme revelados por estudos de biologia molecular (Simon et al. 1993). O estabelecimento da relação simbiótica é essencial para a sobrevivência e multiplicação do fungo e exerce enorme influência na distribuição de espécies e na estruturação de comunidades vegetais, contribuindo, assim, para a biodiversidade e a conservação dos recursos naturais do planeta (Perry et al. 1987, Nichols et al. 1991, Allen 1992).

A formação e efetividade das micorrizas é determinada por fatores genéticos dos dois parceiros, modulado pelos fatores ambientais (Figura 14). Estes fatores são: fatores do solo (fertilidade, presença de elementos tóxicos, aeração e umidade, biota, uso e manejo), da planta (espécie, nutrição, alelopatia), do fungo (espécie, tolerância a estresses, esporulação, infectividade) e do manejo do ecossistema (sistema de produção, rotação de cultura, uso de agroquímicos). A micorrização é geralmente inibida por elevada fertilidade do solo, perturbação do solo, presença de espécies não micorrízicas, uso de fungicidas sistêmicos, erosão do solo e remoção da vegetação (Abbott & Robson 1991, Brundrett 1991). Os fungos micorrízicos, em sua maioria, não são específicos em hospedeiro, mas evidências indicam especificidade ou elevada adaptação a condições edáficas específicas. Existem evidências de adaptação dos fungos micorrízicos a condições diversas como alto ou variações em tolerância a fatores climáticos e edáficos ocorrem inter e intra-especificamente, e isto representa adaptação a locais específicos, controlados por mecanismos genéticos não conhecidos. De todos os fatores ambientais, a destruição da vegetação nativa nos trópicos e o declínio das florestas nas regiões temperadas são os que causam perdas substanciais da diversidade dos fungos micorrízicos, podendo resultar na perda permanente de alguns isolados altamente adaptados às condições locais específicas.

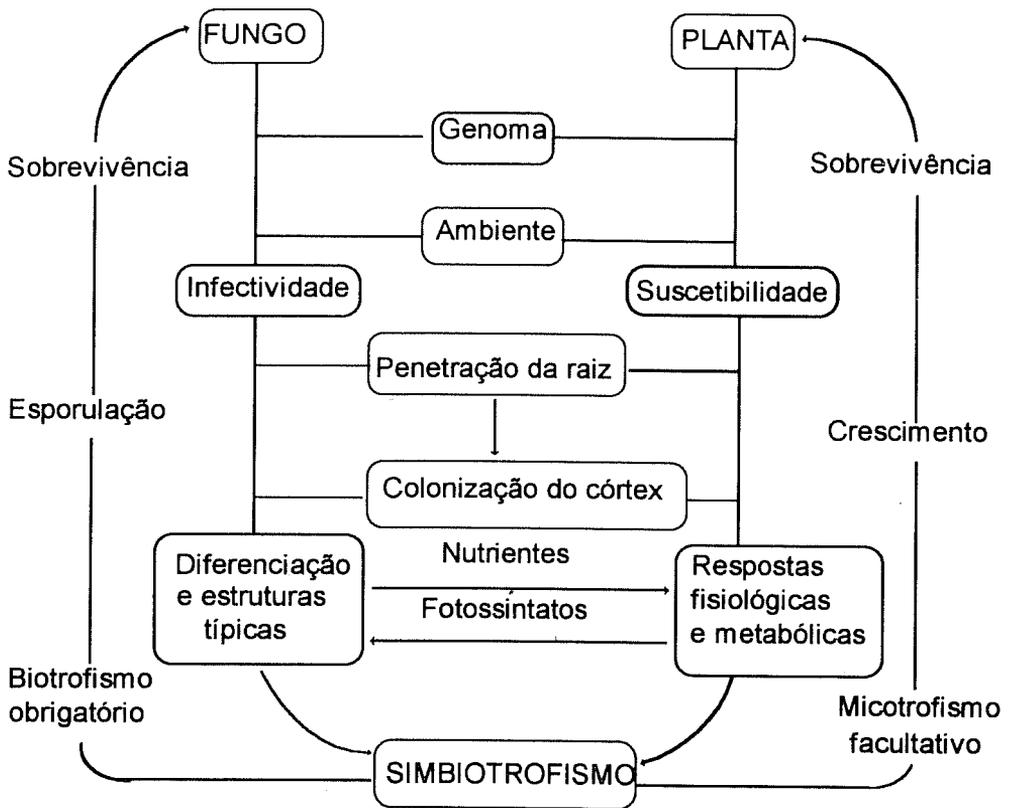


Figura 14. Estabelecimento, funcionamento e conseqüências do mutualismo fungo-planta nas associações micorrízicas.

A planta, através da fotossíntese, fornece energia e carbono para o fungo, enquanto este absorve nutrientes minerais e água do solo, transferindo-os para a planta hospedeira e garantindo, assim, a natureza mutualista da simbiose. Considerando-se o custo energético de manutenção das micorrizas em comparação com o das raízes, Pankow et al. (1991) estimaram que a formação de micorrizas é 100 e 10.000 vezes mais vantajosa, em termos de superfície e comprimento de raízes absorventes, respectivamente. As respostas em crescimento da planta hospedeira resultam de benefícios diversos, como:

- a) melhor utilização de água e nutrientes do solo;
- b) melhor adequabilidade da planta e do fungo ao ecossistema;
- c) maior capacidade de sobrevivência e crescimento de plântulas e mudas;
- d) diminuição dos efeitos adversos causados por pragas e doenças;
- e) maior tolerância das plantas aos estresses abióticos.

As micorrizas são importantes componentes dos sistemas subterrâneos e contribuem para a determinação da estrutura, função e sustentabilidade da biomassa vegetal (Söderström 1991). Assim, qualquer alteração nas micorrizas pode ter conseqüências duradouras no ecossistema e nos processos da biosfera (Perry et al. 1987), interferindo em aspectos ambientais que envolvem o ciclo de carbono e nutrientes, a biodiversidade e a regeneração da vegetação (Read 1991, Allen 1992).

As micorrizas interferem no controle do ciclo do carbono como importante dreno deste elemento da atmosfera. Estima-se que 10% do C-CO₂ fixado pela fotossíntese vai para o fungo simbiótico. A quantidade de C requerida pelas micorrizas em ecossistemas florestais pode atingir 450 kg/ha/ano, correspondente a 15% da produção total líquida do ecossistema, ou equivalente a 10% da produção de madeira (Harley & Smith 1983, Vogt et al. 1991). De todo o C alocado nas raízes, cerca de 20 a 25% são consumidos na respiração e em torno de 30% são alocados em estruturas fúngicas, como corpos de frutificação e micélio. A biomassa micorrízica representa grande reservatório de C e recicla mais rapidamente que as raízes e os tecidos não-micorrizados.

Os efeitos da micorrização na ciclagem dos nutrientes resultam da grande absorção pelas raízes e do aumento da disponibilidade destes no solo. Raízes micorrizadas e estruturas fúngicas, quando mortas, fazem parte da matéria orgânica do solo e podem representar, nos ecossistemas florestais, 48% da matéria orgânica (Vogt et al. 1991). As raízes finas, raízes micorrizadas e corpos de frutificação dos fungos representam, portanto, grande reservatório de nutrientes com reciclagem muito rápida. Além deste aspecto, as hifas atuam como pontes de ligação na transferência de nutrientes entre resíduos orgânicos em decomposição e as raízes ou entre raízes de diferentes espécies, podendo transferir P, Ca entre as plantas e N₂ fixado pelas leguminosas para plantas não-fixadoras (Newman 1988, Read 1991).

As micorrizas contribuíram para a evolução das espécies vegetais, sendo muitas delas altamente dependentes desta relação simbiótica para sua sobrevivência (Allen 1992). Quanto à suscetibilidade à micorrização, as plantas são consideradas micorrízicas e não-micorrízicas, sendo as últimas consideradas exceção na natureza. A condição micorrízica representa o estado natural da maioria das plantas em seu hábitat e as causas da condição não-micorrízica são de ordem evolutiva, porém não conhecidas. Em torno de 90% das plantas terrestres são micorrízicas (Harley & Smith 1983, Safir 1987), sendo as seguintes as famílias não micorrízicas ou raramente micorrízicas: Aizoaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Comelinaceae, Polygonaceae, Cruciferae, Portulacaceae, Fumaraceae, Nyctaginaceae, Phytolacaceae, Juncaceae e Urticaceae (Allen 1992). As plantas micorrízicas, em função de sua exigência nutricional e arquitetura/morfologia do sistema radicular e relações com o fungo, apresentam

diferentes graus de dependência simbiótica e podem ser consideradas obrigatórias ou facultativas (Janos 1980). Do mesmo modo, a sobrevivência e dispersão dos fungos micorrízicos são influenciados pela presença de plantas hospedeiras (Brundrett 1991). Embora alguns fungos micorrízicos não tenham perdido sua capacidade saprofítica, durante o processo da evolução do caráter simbiótico; a grande maioria é biotrófico obrigatório e só se multiplica em associação com a planta. Assim, a simbiose micorrízica é um fenômeno de grande importância para a biodiversidade do planeta (Read 1991, Söderström 1991, Allen 1992).

Por causa de seus efeitos benéficos para a planta hospedeira, as micorrizas interferem na nutrição e fisiologia das espécies, com reflexos na capacidade invasora, na competitividade e formação de comunidades vegetais (Janos 1988, Newman 1988). Isto é de grande importância no processo de regeneração natural dos ecossistemas e essencial na formação de sistemas tecnogênicos, como no caso da revegetação de áreas degradadas. Outro aspecto dos benefícios das micorrizas relaciona-se às possibilidades de diminuição no uso de insumos, como fertilizantes e pesticidas, o que contribui para a redução do impacto ambiental provocado pelas atividades agrícolas e facilita o reflorestamento (Cordel et al. 1987, Siqueira & Saggin-Júnior 1994).

Principais tipos e características

Considerando-se sua morfologia e anatomia, as micorrizas são classificadas em ectomicorrizas, ectoendomicorrizas e endomicorrizas, sendo as endomicorrizas subdivididas em vesículo-arbusculares (MVA), ericóides e orquidóides. As ectos e MVA são os tipos mais importantes do ponto de vista econômico e ambiental, e as principais características diferenciais entre esses dois tipos encontram-se resumidas no Quadro 40.

Enquanto as ectomicorrizas são dominantes nas florestas de clima temperado, as MVA são cosmopolitas e predominantes nos ecossistemas tropicais, onde 95% das espécies são endomicorrízicas. As MVA ocorrem em aproximadamente 300 mil espécies de plantas e os fungos que as formam pertencem à ordem Glomales, dos Zigomicetos, sendo conhecidas aproximadamente 140 espécies distribuídas nos gêneros *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* e *Entrophospora*. Esses fungos são simbioses obrigatórios, não apresentam crescimento saprofítico na ausência de raízes vivas (Siqueira et al. 1985) e sua ocorrência é determinada pela planta e pelo solo (Johnson et al. 1992). Os principais aspectos ecológicos das MVA encontram-se resumidos no Quadro 41. As espécies vegetais que formam ectomicorrizas restringem-se a poucas famílias, na maioria espécies arbóreas de maior importância econômica e representatividade nas regiões de clima temperado, onde 90% das espécies arbóreas são ectomicorrízicas (Harley & Smith 1983).

Quadro 40. Características morfo-anatômicas, ecológicas e funcionais dos dois tipos principais de micorrizas (Siqueira et al. 1991a).

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

Entretanto, muitas árvores de clima tropical ou subtropical podem ser ectomicorrízicas, especialmente em área onde a atividade vegetativa é restrita por razões ambientais. Dentre estas últimas, destacam-se muitas leguminosas arbóreas tropicais, pertencentes à subfamília Caesalpinioideae, e representantes da família Myrtaceae. Algumas destas espécies formam separadamente ou simultaneamente outros tipos de micorrizas, como se verifica em espécies do gênero *Eucalyptus* (Myrtaceae), que pode formar ectomicorrizas e MVA.

Estima-se que existem mais de 5.000 espécies de fungos que formam ectomicorrizas, sendo a maioria pertencente à subdivisão Basidiomycotina. Algumas espécies da Ascomycotina, Zigomicotina e Fungos Imperfeitos também formam ectomicorrizas (Marx 1991).

Quadro 41. Aspectos gerais das MVA nos ecossistemas.

Característica considerada	Ecossistem a tropical (natural)	Agroecossistem a (baixo uso de insumos)	Sistemas manejados intensivament e	Sistemas altamente perturbados
Diversidade fúngica	Alta	Alta-média	Baixa	Muito baixa
Fertilidade do solo	Baixa	Baixa-média	Alta	Muito baixa
Grau de estresse	Baixo	Média-alta	Baixo	Muito alto
Necessidade de	Baixa	Muito alta	Baixa	Muito alta
Grau de micotrofia	Baixo	Alto	Facultativo	Alto
Importância relativa	Alta	Muito alta	Baixa	Muito alta

Muitos dos fungos ectomicorrízicos podem ser identificados no campo através de observações das frutificações (basidiocarpos ou ascocarpos) associadas às raízes das árvores ou em isolamento em meios de cultura no laboratório. Há evidências de certa especificidade na associação hospedeiro-fungo; entretanto, em uma única árvore podem ser encontradas até 30 espécies de fungos, embora na maioria dos casos sejam encontradas apenas duas ou três espécies.

A maioria dos estudos da ocorrência natural dos fungos ectomicorrízicos em florestas naturais ou implantadas e em viveiros de mudas, bem como da sua importância para as espécies hospedeiras, têm sido feitos nas regiões temperadas, onde ampla diversidade de espécies fúngicas são encontradas (Allen 1992). No entanto, muitas espécies são de ocorrência natural, associadas a espécies nativas dos trópicos, particularmente algumas leguminosas arbóreas e espécies da família Dipterocarpaceae, dominantes em florestas tropicais úmidas de certas regiões do mundo, como as espécies *Shorea robusta* e *Monotes elegantis*, que são árvores importantes no norte da Índia e na África, respectivamente (Harley & Smith 1983).

Algumas espécies florestais de clima temperado como *Pinus* foram introduzidas para reflorestamento em regiões de clima tropical e subtropical e trouxeram várias espécies de fungos ectomicorrízicos, hoje comumente encontrados em áreas reflorestadas ou em plantas isoladas nestas regiões. Em florestas de *Eucaliptus* e *Pinus* várias espécies são encontradas, destacando-se *Phisolithus tinctorius* e *Telephora terrestris* e espécies dos gêneros *Scleroderma*, *Rhizopogon*, *Suillus* e *Hebeloma* (Marx 1991). *P. tinctorius* e *Paxillus involutus* são sempre encontrados em locais adversos, enquanto *Hebeloma* é altamente intolerante a esses ambientes (Deacon & Fleming 1992). Embora esses fungos possam ser disseminados pela dispersão dos esporos pelo vento, a limitação de hospedeiros nas regiões tropicais

parece restringir sua ocorrência natural. Assim, reflorestamentos em áreas novas com *Pinus*, que são altamente dependentes das micorrizas, em geral, requerem micorrização artificial das mudas nos viveiros (Janos 1988). Mudanças com baixa micorrização têm poucas chances de estabelecimento quando transplantadas para locais definitivos, pois há vários casos de fracasso em programas de reflorestamento por falta de micorrização adequada das mudas e por ausência do fungo no local de plantio.

Simbiose e seus efeitos

Micorrizas são sistemas compartimentalizados formados pelo fungo e pela planta e modulados pelo meio ambiente. Os dois componentes bióticos desse sistema relacionam-se de maneira íntima e recíproca, enquanto o solo atua em ambos. A penetração do fungo nas raízes provoca modificações fisiológicas, metabólicas e nutricionais na planta, pois altera profundamente a interface solo/planta e exerce enorme efeito no crescimento. A natureza e magnitude desses efeitos são extremamente variáveis e dependentes da integração fisiológica entre os componentes do sistema micorrízico. Por isso, mesmo sem especificidade, os fungos promovem crescimento diferenciado em diferentes hospedeiros, caracterizando as diferenças na efetividade simbiótica (Bledsoe 1992).

Os efeitos benéficos no crescimento das plantas são amplamente documentados e têm despertado grande interesse de cientistas de diversas áreas, agricultores e de setores do mercado de tecnologia (Jeffries 1987, Siqueira & Franco 1988, Marx 1991, Miller & Jastrow 1992a), pois os fungos micorrízicos apresentam grandes possibilidades de uso em:

- a) programas com fins paisagísticos ou de recuperação ecológica, como em solos erodidos ou perturbados pela construção civil e extração mineral;
- b) na recuperação de dunas litorâneas e de áreas desflorestadas;
- c) em solos agrícolas deficientes em nutrientes como complemento dos fertilizantes minerais;
- d) em solos agrícolas tratados com pesticidas fumigantes, solos sujeitos à inundação periódica e aqueles que possuem baixa população de fungos micorrízicos;
- e) em solos ou substratos inertes para crescimento de plantas em ambientes controlados.

As respostas à inoculação são encontradas tanto em solos fumigados quanto em solos sem fumigação. A inoculação com fungos micorrízicos estimula o crescimento inicial de mudas transplantadas e a produção agrícola e florestal. Estas respostas variam de menos de 10% em culturas anuais a 8.000% em espécies arbóreas com elevada dependência (Siqueira & Franco 1988).

Os benefícios das micorrizas decorrem de efeitos nutricionais e não nutricionais. Os efeitos nutricionais são os mais evidentes e consistentes e resultam, principalmente, da ação do fungo na absorção de nutrientes, ação indireta na fixação biológica de nitrogênio e modificações na translocação, partição e eficiência de uso de nutrientes absorvidos pelas raízes ou micorrizas (Harley 1978, Barea 1991). Plantas micorrizadas, geralmente, acumulam maiores quantidades de macro e micronutrientes, como também de outros elementos, como Br, I, Cl, Na, Al, Si e metais pesados, menores concentrações de N e dos cátions K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Na^+ e maiores dos ânions SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , NO_3^- e Cl^- . Entretanto, isso não é regra, pois a absorção de cátions pode ser facilitada ou inibida pelas micorrizas, dependendo da planta e da disponibilidade do nutriente no solo (Siqueira & Saggin-Júnior 1994). A redução nos teores de nutrientes nas plantas micorrizadas resulta, na maioria dos casos, de efeitos de diluição, visto que as plantas micorrizadas crescem mais e produzem mais matéria seca. No caso das ectomicorrizas, o estabelecimento da simbiose altera a interface solo/planta de modo a facilitar a exploração do solo e propiciar maior absorção de nutrientes (Marx & Ruehle 1989). Além disso, em sistemas ectomicorrízicos verifica-se aumento na mineralização e solubilização de nutrientes imobilizados no solo, o que acelera a ciclagem destes na rizosfera e sua utilização pelas raízes (Vogt et al. 1991). Do total de nutrientes absorvidos da solução do solo ou da liteira, 80-90% do P e 50-70% de N acumulam-se no manto fúngico, sendo parte desses posteriormente transferidos para a planta na forma de P e glutamina, respectivamente (Harley 1978). Em estudo dos efeitos da inoculação com *Pisolithus tinctorius* no crescimento de mudas de *Pinus caribea*, em solo de Cerrado adubado com doses crescentes de P, verificou-se que houve efeito significativo no crescimento da planta em todos os níveis de P no solo, até mesmo no nível mais elevado, em que os teores de P na planta não diferiram (Vieira & Peres 1990). A inoculação com fungos ectomicorrízicos representa importante mecanismo de redução no requerimento externo de P de plantas hospedeiras em ecossistemas florestais. Baseando-se no estudo anterior, a inoculação de mudas de *Pinus caribea* com *P. tinctorius* em solo de Cerrado teve efeito equivalente a 180 ppm de P aplicado.

De todos esses efeitos, o mais consistente e de maior interesse prático é o favorecimento da absorção e utilização de P no solo, pois facilita o crescimento vegetal na maioria dos solos brasileiros, nos quais o P, mesmo presente em grande quantidade, tem acessibilidade reduzida às raízes absorventes. As interações com colóides, reações de precipitação com Al, Fe e Ca e a reduzida difusão favorecem o desenvolvimento de zonas de esgotamento ao redor das raízes absorventes, reduzindo sua absorção pelas raízes (Siqueira 1990).

O favorecimento da absorção de nutrientes pelas micorrizas resulta de mecanismos físicos, químicos e biológicos, conforme discutidos em Siqueira & Saggin-Júnior (1994). As hifas ou micélio crescem das raízes solo adentro, aumentando o volume total de solo explorado e permitindo a absorção fora da zona de esgotamento de nutrientes. A grande capacidade de absorção das hifas e as modificações fisiológicas advindas da micorrização representam outro mecanismo, que capacita as raízes micorrizadas a absorver nutrientes em solução com concentração mais baixa que as não-micorrizadas, resultando em grande redução no requerimento externo de nutrientes pela planta. As hifas podem absorver e transferir P, colocado até 8 cm da superfície da raiz, para a planta (Rhodes & Gerdemann 1975).

O envolvimento das micorrizas na absorção de nutrientes pela planta é bastante evidente em condições subótimas de nutrientes, especialmente de P. Em solos de Cerrado deficientes em P, a efetividade de diferentes fungos micorrízicos em promover o crescimento da soja relaciona-se com o teor de P na planta (Siqueira 1990). A micorrização reduz o requerimento externo de P, sendo esta redução uma função da dependência da planta ao micotrofismo (Siqueira & Saggin Júnior 1994). Tanto o nível de P disponível no solo, que maximiza a resposta à micorrização, quanto o nível crítico para obter resposta positiva no crescimento da planta, têm relação com a dependência micorrízica da planta. Quanto maior a dependência, mais elevado é o nível de P disponível no solo, do qual esta planta se beneficia, e maior será a contribuição da inoculação em termos equivalentes a fosfato solúvel aplicado no solo (Siqueira 1990).

A micorrização representa um importante mecanismo de maximização do uso dos fertilizantes fosfatados aplicados aos solos deficientes e com elevada capacidade de fixação de fosfatos, como aqueles predominantes nos trópicos, podendo contribuir para a redução da necessidade de P das culturas. A aplicação de pequenas quantidades de P é benéfica, em solos com elevado grau de deficiência, e o uso freqüente de doses maciças favorece o crescimento da planta, mas pode reduzir a colonização micorrízica e os benefícios das micorrizas nativas ou introduzidas, tornando as culturas mais exigentes em P e possivelmente outros nutrientes (Koide 1991), e menos tolerantes às deficiências hídricas e aos ataques de patógenos, o que parece estar relacionado com o declínio da produtividade de solos manejados intensivamente (Siqueira et al. 1991a).

Os mecanismos envolvidos no aumento da eficiência de utilização de nutrientes, especialmente do P do solo, não estão bem elucidados. Os estudos conduzidos até o final da década de 70 e início de 80 indicavam que plantas micorrizadas e não-micorrizadas têm acesso às mesmas formas de P no solo, isto é, apenas P da solução do solo, e exploram de maneira mais eficaz o P disponível (Siqueira 1991). No

entanto, vários estudos recentes mostram que plantas micorrizadas utilizam P de formas minerais de baixa solubilidade, como fosfatos de Fe, Al e Ca e o P retido no solo. Isto sugere o envolvimento de mecanismos adicionais de utilização de P pelas plantas micorrizadas (Siqueira 1991). Eles são de grande interesse, pois permitem a recuperação de pelo menos parte do P retido nos solos tropicais e maior eficiência dos fosfatos de rocha aplicados ao solo. Um estudo com 18 espécies de leguminosas e seis gramíneas tropicais mostrou que plantas micorrizadas foram, em média, duas e quatro vezes mais eficientes em utilizar o P que as não-micorrizadas, respectivamente (Saif, citado por Siqueira 1990).

A deficiência de N e de P representa uma das principais limitações do crescimento das plantas nos trópicos, e as micorrizas, embora não sejam capazes de fixar o N_2 do ar, favorecem a sua aquisição através de efeitos indiretos nas simbioses fixadoras desse nutriente e no aumento na absorção do N do solo (Barea & Azcon-Aguilar 1983). Tanto as hifas como raízes micorrizadas são capazes de absorver N de várias formas e transferi-lo para a planta, desempenhando papel de grande importância na aquisição de N em ecossistemas naturais e evitando perdas de NO_3^- por lixiviação. O aumento da FBN em plantas micorrizadas é de grande interesse nos trópicos, onde certas espécies de leguminosas nem mesmo nodulam quando não são micorrizadas. Os benefícios da micorrização na nodulação resultam, principalmente, da melhoria do estado nutricional, o que favorece a fisiologia da planta de modo a aumentar a efetividade dos nódulos pelo fornecimento mais constante de P e fotossintatos para os nódulos. A interdependência entre a FNB e a micorrização das leguminosas parece contribuir para o alto grau de micotrofismo desse grupo de plantas, onde N e P são altamente limitantes do crescimento normal. Assim, a inoculação múltipla nas leguminosas com rizóbio e fungos micorrízicos é muito oportuna e promissora para a produção agrícola e a recuperação de solos nos trópicos (Franco et al. 1992a,b, Herrera et al. 1993).

Os efeitos não nutricionais das micorrizas incluem o favorecimento na relação água:planta, redução dos danos causados por patógenos, acúmulo de substâncias promotoras do crescimento, maior tolerância a estresses abióticos (ex.: temperatura e toxicidade de metais) e agregação do solo (Johnson & Pflieger 1992).

Várias espécies vegetais cultivadas e não cultivadas têm relação água:planta favorecida quando são micorrizadas (Safir, 1987), e essa elevada tolerância à deficiência hídrica é importante agrônômica e ecologicamente, pois auxilia também as plantas a recuperarem a turgidez mais rapidamente quando o nível adequado de água é restabelecido. Esses benefícios são apontados como as causas do sucesso do estabelecimento de mudas micorrizadas transplantadas para locais estressantes, como solos degradados.

A redução das perdas provocadas por pragas e doenças constitui outro grande benefício das micorrizas. As MVA não exercem controle das doenças radiculares, mas reduzem sua severidade e amenizam os efeitos ou os danos causados pelos patógenos, através de melhoria no crescimento e vigor da planta. Elas são consideradas "agentes amenizadores" do estresse causado pelos patógenos, e os especialistas consideram que esse efeito não deve ser considerado como objetivo primário da inoculação com fungos MVA (Powell & Bagyaraj 1984). A micorrização pode também reduzir o crescimento e a maturação de larvas do lepidóptero *Spodoptera frugiperda* em folhas de soja (Rabin & Pacovsky 1985). Isto abre novas perspectivas dos efeitos das micorrizas nas plantas e na produtividade agrícola e conservação ambiental. Os fungos ectomicorrízicos reduzem significativamente o ataque de diversos patógenos e parasitas do sistema radicular, sendo assim considerados agentes de biocontrole de doenças, pois atuam por diversos mecanismos físicos, químicos e biológicos (Duchesne et al. 1987).

As micorrizas podem, ainda, favorecer o crescimento das plantas através da melhoria da agregação do solo. Além do efeito físico das hifas, ocorre a produção de polissacarídeos viscosos pelos próprios fungos ou bactérias associadas, que atuam ativamente na agregação e estabilização das partículas do solo. O manejo dos sistemas de produção, no sentido de favorecer o desenvolvimento de micorrizas ou pelo menos preservar a micorrização natural, torna-se importante no restabelecimento da pedoestrutura degradada pelo cultivo intensivo, que geralmente resulta em solo compactado e susceptível à erosão, com prejuízos na produção agrícola e na qualidade do meio ambiente. A introdução de plantas micorrizadas oferece grande potencial para a revegetação e a estabilização de dunas e solos erodidos ou desertificados (Miller & Jastrow 1992a).

Uso dos fungos micorrízicos

Além de importante componente do sistema solo-planta, as micorrizas são consideradas mecanismos alternativos para aumentar a eficiência dos insumos agrícolas (fertilizantes e pesticidas), baixar os custos de produção, reduzir o impacto ambiental desses produtos em área sob cultivo intensivo, facilitar o reflorestamento e a recuperação de solos degradados. Aspectos relacionados ao uso de fungos micorrízicos, no Brasil, acham-se resumidos no Quadro 42.

Como vários hospedeiros das ectomicorrizas têm elevada dependência micorrízica, recomenda-se a introdução destes fungos em:

- a) plantios exóticos;
- b) solos degradados pela erosão, mineração ou construção civil;
- c) áreas despovoadas ou desprovidas de hospedeiros;
- d) solos e substratos inertes desinfectados; e
- e) em áreas onde os fungos já ocorrem mas pretende-se aumentar a densidade de inóculo ou introduzir organismos mais efetivos que os indígenas.

Quadro 42. Características da aplicação dos fungos micorrízicos no Brasil.

Ectomicorrízicos	Vesículo-arbusculares
Grande potencial	Grande potencial
Alta demanda por produtos florestais	Solos pobres e com deficiência hídrica
Elevada necessidade de reflorestamento	Alta incidência de culturas com dependência micorrízica elevada
Tecnologia disponível para <i>Pinus</i> e em desenvolvimento para outras espécies	Alto preço e baixa eficiência dos insumos agrícolas
Mercado estimado em US\$4,5 milhões/ano	Tecnologia disponível para produção de mudas de culturas e essências nativas
	Inoculação em culturas anuais é inviável com o atual nível de conhecimento

A introdução desses fungos pode ser feita através de várias maneiras e com inoculantes de diversos tipos, como: micélio vegetativo (cultura pura), esporos e basidiocarpos (coletados em povoamentos de hospedeiros; terriço, serrapilheira e solo coletados em florestas estabelecidas) (Marx 1991). Vários fungos ectomicorrízicos têm sido utilizados na produção comercial de inoculantes de elevada eficácia na micorrização de mudas em viveiros de coníferas nos EUA e na Europa (Marx 1991). O uso de inóculo vegetativo de *Pisolithus tinctorius* (nome comercial Mycorhiz) oferece diversas vantagens, como: 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; e d) maior produtividade da floresta.

O custo desta tecnologia é da ordem de US\$10,00 por 1.000 mudas. Como ela ainda não é disponível no mercado brasileiro, viveiristas e reflorestadores usam "terriço" ou basidiocarpos (corpo de frutificação do fungo) coletados em florestas estabelecidas, para promover a micorrização das mudas no viveiro (Castellano & Molina 1989). A eficiência e economicidade desta prática são muito questionadas.

Os fungos MVA têm grande potencial de utilização na agricultura brasileira, por causa; principalmente, do elevado requerimento de insumos, especialmente de fertilizantes, e das possibilidades de déficit hídrico e temperaturas elevadas e da acessibilidade limitada aos fertilizantes por grande parte dos produtores, devido à baixa renda, alto custo dos financiamentos agrícolas e oferta limitada em algumas áreas, dificultada principalmente pelo transporte.

As perspectivas de exploração dos fungos MVA e sua simbiose são otimistas. Mesmo sem dispor de inoculantes comerciais que possam ser usados em larga escala, sistemas alternativos de multiplicação de fungos MVA *in vivo*, por intermédio de

plantas hospedeiras, têm sido desenvolvidos e utilizados em programas de inoculação em culturas estabelecidas a partir de mudas micropropagadas, formadas em viveiros ou plantadas em solos fumigados (Castellano & Molina 1989). Vários produtos comerciais encontrados no mercado exterior utilizam técnica de multiplicação do fungo, sendo empregados com certo sucesso na inoculação de várias culturas e essências nativas. A inoculação em mudas de cafeeiro facilita a absorção do P, acelera o desenvolvimento na fase de muda e reduz o estresse causado pelo transplante, aumentando a sobrevivência e produção no campo (Siqueira et al., 1993). O sucesso ou o fracasso da aplicação de fungos micorrízicos está ligado à dependência da planta hospedeira e ao grau de estresse (Figura 15). As micorrizas não são compatíveis com sistemas de produção agrícola que empregam aplicações elevadas de agroquímicos (fertilizantes e pesticidas), em que elas são até mesmo desnecessárias (Johnson & Pflieger 1992). Mas, em solos de baixa fertilidade, elas atuam de modo complementar aos fertilizantes aplicados (Siqueira 1990).

EFEITO DA SIMBIOSE

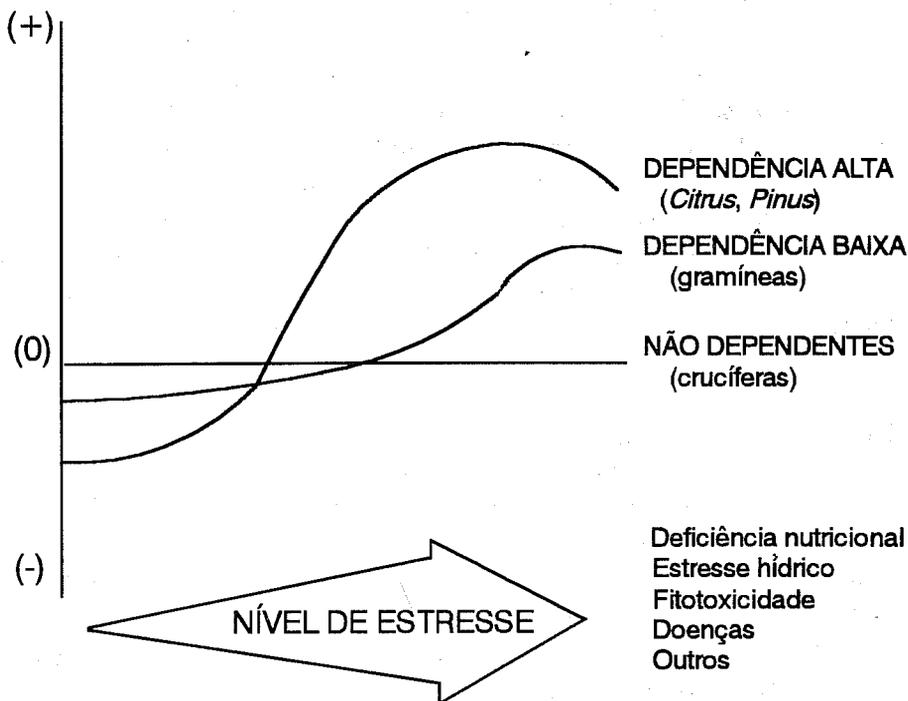


Figura 15. Nível de estresse e benefícios da micorrização em plantas com diferentes graus de dependência (modificado de Siqueira & Saggin-Júnior 1993, Marx 1991).

Considerando-se as limitações do emprego dos fungos MVA em larga escala, torna-se de grande importância qualquer possibilidade de manipulação da população indígena. Em estudo conduzido em solo deficiente em P nos EUA, verificou-se que a fumigação do solo eliminava a micorrização e reduzia a absorção de P em mais de 60% e a produtividade do milho em 80% (Kunishi et al. 1989), evidenciando a importância dos fungos nativos do solo. Fatores como: a) cultivo de espécies não hospedeiras; b) solo em pousio; c) monocultura prolongada; g) melhoramento de plantas; e) uso de pesticidas; f) aplicação excessiva de fertilizantes e cultivo intensivo do solo podem provocar redução na micorrização com reflexos imediatos na produtividade das culturas (Johnson & Pflieger 1992).

Como já é conhecido, as micorrizas atuam como "tampões", amenizando o impacto de alterações ambientais (Allen 1992), o qual é influenciado pela infectividade ou potencial de inóculo no solo. Em solo degradado ou com baixa infectividade, a sobrevivência do hospedeiro é baixa e o potencial de inóculo permanece inalterado pela vegetação, retardando a regeneração ou recuperação do impacto pelo ecossistema. Por outro lado, quando a infectividade é alta naturalmente, ou pela infecção do solo e ou pela inoculação nas mudas, a sobrevivência do hospedeiro é alta e sua presença contribui para a manutenção ou elevação da infectividade do solo, facilitando a recuperação do ecossistema. Este aspecto e o grau de estresse são fatores determinantes da sucessão vegetal das espécies em relação a seu hábito micotrófico. O sucesso ou o fracasso do estabelecimento de espécies introduzidas em áreas destinadas à revegetação depende das características micotróficas destas espécies e da capacidade destas de responder à inoculação com fungos micorrízicos. Estudos preliminares em essências nativas de interesse para o reflorestamento ciliar apontam diferenças marcantes entre as espécies arbóreas (Quadro 43). De acordo com Janos (1988), em condições de estresse, predominam espécies vegetais ectomicorrízicas, que são substituídas por espécies endomicorrízicas (VA) à medida que as condições se tornam mais favoráveis ao crescimento. Em florestas tropicais úmidas, na sucessão durante a regeneração, após um impacto como desmatamento, o ecossistema é dominado pelas espécies não-micotróficas, que são então substituídas pelas micotróficas obrigatórias nas séries subseqüentes (Janos 1980). A dinâmica deste processo, no entanto, depende da fertilidade do solo e da disponibilidade de propágulos viáveis para colonização. Após o desmatamento, por exemplo, a fertilidade diminui rapidamente e as espécies não-micotróficas são substituídas pelas micorrizas obrigatórias (Figura 16). A dinâmica desta sucessão é controlada pela infectividade do solo, que determina a velocidade de substituição das espécies. As espécies micorrízicas facultativas são mais influenciadas pela fertilidade do que pela infectividade micorrízica.

Quadro 43. Categorização de algumas essências nativas de matas remanescentes do Sudeste brasileiro, quanto a resposta à micorrização no crescimento inicial (Siqueira et al., dados não publicados).

Elevada resposta	Não responde
Açoita-cavalo (<i>Luehea divaricata</i>)	Bauhinia (<i>Bauhinia</i> sp.)
Aroeira (<i>Schinus terebinthifolius</i>)	Cedro (<i>Cedrela fissilis</i>)
<i>Cassia carnaval</i> (<i>Senna spectabilis</i>)	Copaíba (<i>Copaiba langsdorfii</i>)
<i>C. verrugosa</i> (<i>S. multijuga</i>)	Guapuruvu (<i>Schizolobium parahyba</i>)
Capim-fedegoso (<i>Senna macranthera</i>)	Jatobá (<i>Hymenae courbaril</i>)
Jacarandá-mimoso (<i>Jacaranda mimosaeifolia</i>)	Paineira (<i>Chorisia speciosa</i>)
Jambolão (<i>Syzygium jambolanum</i>)	Pau-pereira (<i>Platyciamus regnellii</i>)
Pau-ferro (<i>Caesalpineia ferrea</i>)	Pinha-do-brejo (<i>Talauma ovata</i>)
Trema (<i>Trema micrantha</i>)	Tento (<i>Adenantha</i> sp.)
Uva -do-japão (<i>Hovenia dulcis</i>)	Tipuana (<i>Tipuana tipu</i>)

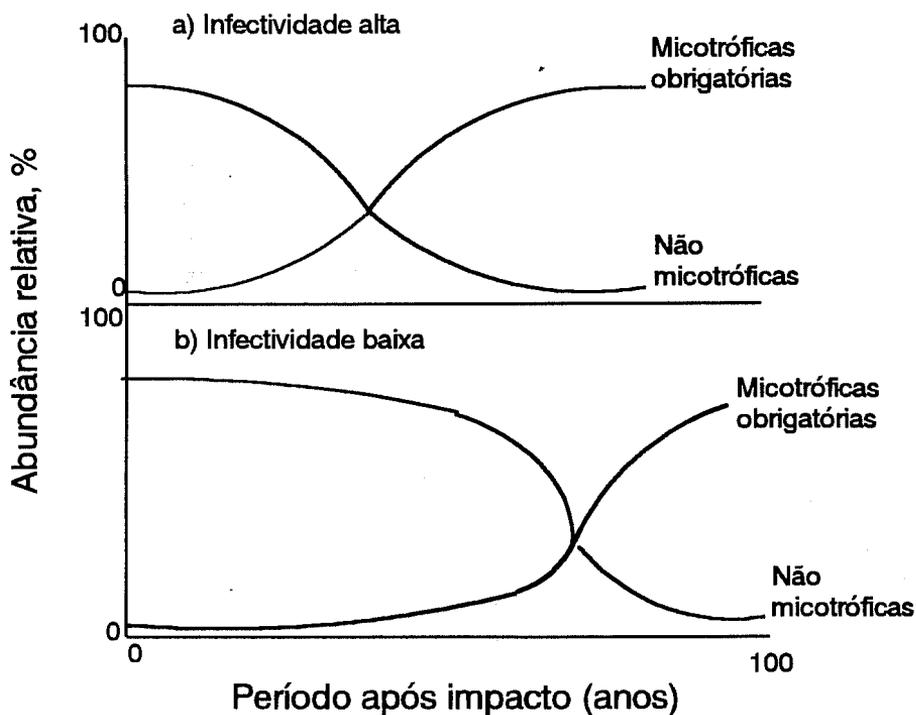


Figura 16. Abundância relativa de espécies vegetais durante a sucessão em floresta tropical úmida, em solos com alta e baixa infectividade micorrízica (Janos 1980).

Além dos benefícios já mencionados, as micorrizas são essenciais no funcionamento dos ecossistemas naturais (Fitter 1991), pois facilitam a recolonização de áreas degradadas (Kormanik & Schultz 1985, Gardner & Malajckuk 1988) e exercem proteção das plantas em solos contaminados com metais pesados (Gildon & Tinker 1981, Heggo et al. 1990, Griffioen & Ernst 1990), com aleloquímicos (Siqueira et al. 1991a), com efeito residual de herbicidas (Siqueira et al. 1991b) e outros tipos de estresses (Sylvia & Williams 1992). Têm, portanto, grande influência na biodiversidade das plantas e dos microrganismos e na recuperação de áreas degradadas.

5.4. Agregação do solo

Solos bem estruturados, com agregados estáveis e poros com tamanhos diversos, são essenciais para garantir alta atividade biológica (Ladd et al. 1993), retenção de água e aeração adequada (Tisdall & Oades 1982). A agregação protege os microrganismos do solo e estes, por sua vez, contribuem para a formação e a estabilidade dos agregados.

Os solos degradados apresentam perda total de estrutura, geralmente provocada por ação mecânica ou perda da matéria orgânica (Boyle et al. 1989, Jastrow & Miller 1991). A recuperação da "arquitetura" dos solos degradados é uma etapa essencial no processo de reabilitação. Para isso, três condições são necessárias: a) presença de propágulos viáveis em número suficiente de microrganismos ativos no processo de agregação; b) o suprimento de material orgânico deve ser constante e suficiente, para garantir a atividade destes microrganismos e a produção de agentes cimentantes e húmus; c) tempo suficiente para que os microrganismos produzam melhoria estrutural.

O processo de agregação do solo é bastante complexo e envolve a ação de fatores abióticos e bióticos. 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 das partículas do solo, pois atuam como ligantes físicos, produzindo agentes colantes, agregantes e cimentantes, como polissacarídeos de alta viscosidade e substâncias húmicas, que se acumulam como resultantes da ação dos organismos heterotróficos sobre a matéria orgânica do solo (Chenu 1993). Aparentemente, o primeiro mecanismo está mais ligado à formação dos agregados, enquanto o segundo se associa mais à estabilização destes. No entanto, no cenário real, a separação entre os mecanismos é difícil.

Tanto a formação quanto a estabilidade dos agregados mostram correlações altas e positivas com o teor de matéria orgânica do solo e o comprimento das raízes fisiologicamente ativas (Boyle et al. 1989, Jastrow & Miller 1991). Em ambos os

casos, há evidências de que esses efeitos resultam de alto suprimento de carbono na microbiota do solo, e não de efeitos da própria matéria orgânica. Sob ação dos microrganismos o processo de agregação decresce na seguinte ordem: fungos > actinomicetos > bactérias produtoras de polissacarídeos extracelulares > leveduras > maioria das bactérias. A aplicação de exopolissacarídeos microbianos ao solo aumenta sua capacidade de reter água e reduz a dessecação (Chenu 1993). Existe uma relação muito estreita entre cultivo do solo e manejo dos restos culturais e o seu estado de agregação. Esse efeito está relacionado com a redução do teor de C no solo, e é mais pronunciado quando os restos culturais são queimados, removidos mecanicamente ou pela erosão do solo. A incorporação dos restos culturais e as práticas de conservação do solo favorecem a atividade microbiana e reduzem o impacto do cultivo sobre os solos agrícolas, aumentando sua sustentabilidade e reduzindo o impacto ambiental do cultivo do solo.

A estabilidade dos agregados é controlada por agentes cimentantes permanentes, representados pelos aluminossilicatos e óxidos amorfos, polímeros orgânicos adsorvidos na superfície das argilas e agentes orgânicos de ligação, que têm efeito muito rápido porque são matérias orgânicas 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, como é o caso de resíduos de leguminosas (Martin & Fotch 1977).

As raízes e hifas são também importantes agentes agregantes com ação física e biológica, mas seus efeitos são temporários (Jastrow & Miller 1991). Os fungos MVA contribuem para a agregação e estabilização de ecossistemas perturbados, como dunas, indiretamente pela nutrição de P nas plantas, ou diretamente pela formação de agregados (Koske & Polson 1984). A agregação de partículas de solos degradados é também favorecida pela ação de exopolissacarídeos, micélio e raízes em dunas de areia, solos de mineração (Sutton & Sheppard 1976) e outros (Thomas et al. 1986). O reflorestamento e a estabilização de solos degradados ou severamente erodidos são favorecidos quando mudas de diversas espécies arbóreas e herbáceas recebem inóculos de fungos micorrízicos (Marx & Ruehle 1989, Jastrow & Miller 1991, Miller & Jastrow 1992a). O rápido declínio verificado na agregação dos solos virgens, quando são cultivados, é devido à redução da matéria orgânica e à ruptura das hifas e raízes que atuam ativamente na estabilidade dos macroagregados. Esta é a razão pela qual os solos sob gramíneas, que possuem sistema radicular abundante e elevada rizodeposição, têm boa agregação e são bem estruturados.

As perspectivas de promover a agregação de solos com estruturação deteriorada (solos agrícolas, erodidos, ou de mineração) pela manipulação da população microbiana do solo, via manejo dos restos culturais e inoculação, são

promissoras, mas somente poderão ser econômicas se o inóculo for multifuncional, isto é, tiver objetivos adicionais. A relação entre a matéria orgânica do solo, os microrganismos e a estrutura é bastante evidente, mas a distinção entre causa e efeito não é totalmente clara (Lynch 1984). Enquanto a matéria orgânica e os microrganismos estabilizam a estrutura, uma boa estrutura, por sua vez, protege fisicamente a matéria orgânica e os microrganismos do solo. Modificações nas práticas de cultivo, especialmente naquelas relacionadas ao manejo dos restos culturais e à rotação de culturas com gramíneas com abundante sistema radicular, podem, por si só, representar melhorias consideráveis na agregação e estabilidade dos agregados do solo. Isto representa melhoria nas condições de crescimento e na produção das plantas e redução na erosão dos solos cultivados, o que diminui o impacto da agricultura no meio ambiente.

5.5. Biorremediação

A microbiologia encontra-se à frente dos estudos com poluentes e da tecnologia ambiental (Grainger & Lynch 1984, Shannon & Uterman 1993, Kobayashi & Rittmann 1982). A capacidade dos microrganismos de transformar elementos metálicos (Quadro 44) e a existência de consórcio microbiano no solo capaz de transformar ou metabolizar misturas de poluentes orgânicos, cujos componentes apresentam características químicas relacionadas àquelas de precursores ou intermediários bioquímicos (alcanos, indoles, piridinas, quinonas e hidrocarbonetos aromáticos), oferecem grande oportunidade na remediação de áreas contaminadas (McGill et al. 1981, Bollag 1992, Catallo & Portier 1992). A degradação de compostos poluentes com estruturas químicas não relacionadas aos substratos típicos, como os hidrocarbonetos clorados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e PCBs ("polychlorinated biphenyls"), requer "aclimatação" e "adaptação" das populações dos consórcios indígenas e introdução e proliferação de microrganismos exóticos capazes de degradar ou modificar estes produtos, tornando-os disponíveis para as espécies indígenas. "Aclimatação" é definida, neste contexto, como o tempo que os microrganismos indígenas precisam para adquirir a capacidade de degradar compostos novos, enquanto "adaptação" refere-se à modificação de características dos organismos que facilitam ou aumentam sua capacidade de sobreviver e reproduzir em determinado ambiente. Assim, o solo pode ser visto como um sistema ecológico que tem mecanismos próprios de auto-regulação funcional, que agem no nível celular ajustando suas funções às condições ambientais.

Biorremediação compreende uma variedade de processos de biotratamentos que variam significativamente em seus mecanismos de ação, principalmente os de mineralização, transformação parcial, humificação e alteração do potencial redox (Sklandany & Metting Júnior 1992, Shannon & Uterman 1993).

Quadro 44. Exemplos de transformações microbianas de metais (Olson & Kelly 1986).

Mecanismos	Organismos	Bioconversão
Fonte de energia	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	$\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$
Fonte de energia	<i>Sulfolobus senarumti</i>	$\text{Sb}^{3+} \rightarrow \text{Sb}^{5+}$
Receptor de elétrons	<i>Bacillus</i> sp.	$\text{Mn}^{4+} + 2e \rightarrow \text{Mn}^{2+}$
Redução*	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	$\text{Hg}^{2+} \rightarrow \text{Hg}^0$
Oxidação*	<i>Bacillus</i> sp.	$\text{AsO}_2^- \rightarrow \text{AsO}_2^{3-}$
Alquilação*	<i>Clostridium cochlearium</i>	$\text{CH}_3^- + \text{Hg}^{2+} \rightarrow \text{CH}_3\text{Hg}^-$
Desalquilação*	<i>Pseudomonas</i> sp.	$\text{Hg} \rightarrow \text{}^+\text{Hg}$
Bomba de fluxo*	<i>Escherichia coli</i>	$\text{AsO}_4^{3-} \rightarrow \text{AsO}_4^{3-}$ (exocelular)
Desconhecido*	<i>Aquaspirillum</i> sp. (intracelular)	$\text{Fe} \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4$ (extracelular)

* Transformações envolvidas na destoxificação ambiental.

Embora alguns relatos tenham exagerado sobre as potencialidades da biorremediação para aliviar problemas de poluição, ela oferece uma variedade de processos que têm sido usados com bastante sucesso. Cerca de 300 compostos poluentes do solo têm sido considerados passíveis de biodegradação microbiana (Sklandany & Metting-Júnior 1992); portanto, com possibilidades de aplicação da biorremediação em locais contaminados por:

- derramamentos de petróleo bruto e hidrocarbonetos derivados da refinação (benzeno, xileno, tolueno, diesel, etc.);
- preservativos de madeira (pentaclorofenol, neosoto);
- solventes diversos (acetona, butanol, etileno-glicol, cloreto de metileno);
- outros (pesticidas, TNT, halógenos).

Apesar da ocorrência generalizada de microrganismos capazes de degradar compostos orgânicos, existem fatores limitantes da biorremediação, devendo a biotratabilidade (refere-se à medida do potencial de efetividade da biorremediação) do resíduo ou do solo ser avaliada. A análise da biotratabilidade definirá a viabilidade de uso de bioprocessos para tratar determinado problema, no qual se identificarão, principalmente, os fatores limitantes e as maneiras de solucioná-los no campo. Para conseguir uma efetiva biodegradação são necessárias a presença de microrganismos ou de consórcios apropriados e as condições ambientais adequadas para a atividade biológica. A proporção e a disponibilidade de contaminantes, substratos e nutrientes, as condições de umidade, a aeração e temperatura e a presença de compostos inibitórios são fatores que geralmente limitam a biorremediação (Shannon & Uterman 1993).

Os tratamentos de descontaminação biológica requerem a combinação de conhecimentos da ecologia microbiana e dos processos de engenharia, pois o envolvimento destes processos visam a criar condições favoráveis de crescimento e atividade microbiana capazes de promover a descontaminação do solo sem prejuízos ambientais. Os métodos de biorremediação são classificados em duas categorias principais: os tratamentos feitos na superfície do solo em algum tipo de ambiente engeheirado e a biorremediação *in situ*. Os processos e as aplicações destas categorias são discutidos por Sklandany & Metting Júnior (1992) e acham-se listados no Quadro 45.

De todos esses processos, o "landfarming"(cultivo edáfico), em tratamentos de solos contaminados, é o de uso mais extensivo. "Landfarming" considera o solo como um reator biológico. Os resíduos tratáveis são incorporados na camada reativa de aproximadamente 50 cm onde sofrerão ataque microbiano e degradação. Contaminações de petróleo no solo podem ser reduzidas de 10.000 ppm (7% por peso) para menos de 100-200 ppm em poucos meses, de acordo com o American Petroleum Institute (citado por Sklandany & Metting Júnior 1992). A compostagem por 22 semanas a 55°C reduziu em 99% a contaminação do solo por misturas de explosivos. Normas de aplicação dos processos de biorremediação de solos contaminados com resíduos industriais já foram feitas por órgãos ligados ao meio ambiente no Brasil, como a CETESB, em São Paulo (P.N. 1.603.06-002, revisão nº 5, fornecida pela Drª D.C.P. Casarini - CETESB, SP). Geralmente, recomenda-se que apenas resíduos com biodegradação acima de 30% possam ser aplicados ao solo.

Quadro 45. Categorias, processos e aplicação da biorremediação (Sklandany & Metting-Júnior 1992).

Categoria	Processos	Contaminações
Superfície do solo	Cultivos da terra Fase sólida (pilhas) Biorreatores Lavagem do solo Compostagem	Petróleo, carvão betuminoso, BTX, clorobenzeno, PAHA, creosoto, TNT
<i>In situ</i>	Manipulação de constituintes aquosos Bioventilação	PCBs, petróleo, creosoto, BTEX, PAHs, zinco, fenol

A biorremediação pode ser maximizada por fatores diversos, como manipulação do solo, aplicação de substratos orgânicos e nutrientes inorgânicos, e presença de raízes. Por exemplo, a aplicação de NO_3^- promoveu a degradação de BTX em solos contaminados com combustíveis de aviação (Ward et al. 1989, citado por Skladany & Metting-Júnior 1992). Similarmente, a presença de plantas exerce enorme efeito na biorremediação. Além do aumento na absorção e transformação de compostos orgânicos, as plantas podem acumular metais e radionucleotídeos. A hiperacumulação de metais pesados, a alteração das moléculas orgânicas (pesticidas) e das populações microbianas rizosféricas tornam as plantas importantes componentes dos processos de biorremediação.

A força geradora do processo de biorremediação é a atividade biológica capaz de promover a destoxificação do solo contaminado, sendo muitas vezes necessário aumentar a população de microrganismos responsáveis pelas transformações específicas dos elementos poluentes (Catallo & Portier 1992). Para isto, torna-se necessário a procura de genes específicos em populações indígenas (Ye et al. 1993) e de tecnologia de aplicação dos organismos remediadores selecionados (Materon et al. 1987, Glass 1992). Esse processo é conhecido como "bioaugmentation", que corresponde à inoculação, no solo ou local contaminado, de microrganismos (natural ou mutante) com competência para a despoluição. Isto pode ser conseguido através de três maneiras:

- a) estimulação da população existente através de alterações no ambiente ou aplicação de nutrientes;
- b) isolamento e seleção de organismos competentes e posterior aplicação ao solo;
- c) uso de microrganismos clonados pela engenharia genética (MEG).

Preparações comerciais com microrganismos pré-selecionados são oferecidas por corporações internacionais a preços que variam de US\$18 a US\$360/kg (Glass 1992). Porém, o uso desta tecnologia é ainda restrito a situações mais específicas. A composição biológica destas formulações são mantidas em segredo, mas a maioria inclui estirpes selecionadas de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium* e outras bactérias, do fungo *Phanerochaete chrysosporium* e vários MEG (Glass 1992).

Existe grande interesse no uso dos MEGs no controle da poluição, principalmente em condições de ambiente inadequado para o crescimento de microrganismos não alterados pela tecnologia do DNA, ou onde é requerido elevada atividade biológica, como produção de enzimas em reatores ou colunas. Existe, ainda, a possibilidade de produzir microrganismos comerciais com capacidade para degradar poluentes diferentes, como no caso dos PCBs, que são misturas de numerosos compostos degradados apenas por certos microrganismos (Chapalamadugu & Chaudhry 1992). A engenharia genética não será a panacéia

para o tratamento de rejeitos perigosos, mas poderá trazer contribuições significativas no futuro (Sklandany & Metting Júnior 1992, Hardman 1991). Deve-se considerar, no entanto, que existem restrições severas quanto à liberação dos MEGs no ambiente.

Biorremediação é uma tecnologia muito atraente porque é um processo natural. No entanto, ainda existem impedimentos para seu uso mais generalizado, destacando-se: a) falta de conhecimento sobre os processos biológicos envolvidos; b) falta de resultados experimentais validados em escala comercial e de métodos de monitoramento do processo "in loco" e dos seus riscos; e c) regulamentação dos limites de seu uso.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os impactos ambientais evidentes no planeta são resultantes, principalmente, das ações antropogênicas nos processos naturais, tais como os ciclos dos elementos na natureza, destacando-se o ciclo do carbono, que ao mesmo tempo que exerce enorme efeito no aquecimento global (efeito estufa), sob a forma de CO₂, representa o alicerce da sustentabilidade dos ecossistemas na forma de matéria orgânica no solo, através da ciclagem dos elementos essenciais às diversas formas de vida. Estudos recentes mostram que o cultivo de solo das regiões temperadas por períodos acima de 50 anos interferem nos processos biológicos do sistema solo-planta, provocando perdas de 50% do C, 50% do N, 30-40% do S e 10-30% do P original do solo. Acredita-se que perdas similares ocorrem nos solos das regiões tropicais em menos de 10 anos. Deste modo, o cultivo dos solos tropicais apresenta maior ameaça ambiental, pois estes são mais facilmente degradados, e esforços devem ser concentrados no sentido de alcançar maior sustentabilidade dos sistemas agrícolas nestas condições. Para isto, além da adoção de técnicas agrônômicas específicas, como manejo do solo, seleção de culturas, sistemas de produção e uso de agroquímicos, deve-se procurar maximizar o uso de processos biológicos, tais como: fixação biológica de nitrogênio, micorrizas, controle biológico, microrganismos estimulantes do crescimento e sincronização da liberação e da ciclagem de nutrientes.

Além de contribuírem direta ou indiretamente para reduzir o impacto gerado pelas pressões da expansão demográfica do planeta, os microrganismos e seus processos representam alternativas de destoxificação de agentes poluidores (como biorremediadores) e de programas de revegetação e reflorestamento (como facilitadores).

Tanto na biorremediação de solos poluídos quanto na reabilitação de solos degradados, a presença de plantas maximiza o processo e facilita o restabelecimento da interação solo-planta-organismo. Espécies vegetais destinadas a programas de recuperação de solo devem apresentar as seguintes características:

- a) elevada e prolongada capacidade fotossintética;
- b) elevada tolerância a estresse nutricional e ambiental;
- c) elevada rizodeposição, sem liberar substâncias com atividades aleloquímicas;
- d) produzir resíduos que se decompõem fácil e rapidamente (meia-vida menor do que cinco anos) sem liberar substâncias tóxicas;
- e) estimular e garantir população microbiana abundante e diversificada na rizosfera; e
- f) favorecer a sobrevivência de propágulos de microrganismos simbióticos e estabelecer relações simbióticas funcionalmente ativas, como a fixação biológica de nitrogênio e micorrizas.

O uso de tecnologias disponíveis, como a inoculação de mudas de espécies destinadas à recuperação de solo, com estirpes de rizóbio e fungos micorrízicos selecionados, proporciona economia de insumos e facilita o processo. Os microrganismos do solo, através de suas atividades, são ainda bons indicadores da qualidade do solo e servem para monitorar processos de reabilitação. Medidas da respiração edáfica e das atividades enzimáticas, como da amilase, proteinase, invertase, urease e fosfatase, são bons indicadores da evolução dos solos tecnogênicos (Kiss et al. 1989).

O solo é geralmente considerado como meio de sustentação das plantas. Esta é, no entanto, uma visão simplista de uma "entidade organizada e com vida", que deve ser compreendida como um componente ecológico multifuncional, dinâmico e crítico, de sustentação da vida no planeta.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, 35:121-150, 1991.
- ALEXANDER, M. Biochemical ecology of soil microorganisms. *Annual Review of Microbiology*, Palo Alto, 18:217-253, 1964.
- ALEXANDER, M. Microorganisms and chemical pollution. *Science*, Washington, 23(9):509-515, 1973.
- ALEXANDER, M. *Introduction to Soil Microbiology*. New York: John Wiley & Sons, 1977. 467p.
- ALEXANDER, M. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, Washington, 221:132-138, 1981.
- ALLEN, M.F. (Ed.) *Mycorrhizal functioning; an integrative plant-fungal process*. New York: Chapman & Hall, 1992. 515p.
- ALLEN, O.N. & ALLEN, E. *The Leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation*. Madison: The University of Wisconsin Press, 1981. 812p.

- ANDERSON, I.C.; POTH, M.; HOMSTEAD, J. & BURDIGE, D. A comparison of NO and N₂O production by the autotrophic nitrifier *Nitrosomonas europaea* and the heterotrophic nitrifier *Alcaligenes faecalis*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 59(11):3525-3533, 1993.
- ANDERSON, J.M. Responses of soils to climate change. **Advances in Ecological Research**, Palo Alto, 22:163-210, 1992.
- ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. **Soil Science**, Baltimore, 130:211-216, 1978a.
- ANDERSON, J.P.E. & DOMSCH, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. **Soils Biology and Biochemistry**, Oxford, 10(3):215-221, 1978b.
- ANDRADE, D. S.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. & HUNGRIA, M. **População microbiana em solos sob plantio direto ou convencional com soja, milho e trigo**. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO SOBRE PLANTIO DIRETO NA PEQUENA PROPRIEDADE, 1, 1993, Ponta Grossa. Resumos. Ponta Grossa: IAPAR, 1993a. p.23.
- ANDRADE, D.S.; COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. L. & HUNGRIA, M. **Interação entre microrganismos do solo e feijão em monocultura ou consórcio**. REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4, 1993, Londrina. Resumos. Londrina: IAPAR, 1993b. p. 129.
- ANDREWS, J.H. & HARRIS, R.F. R- and K_s-selection and microbial ecology. **Advances in Microbial Ecology**, New York, 9:99-147, 1986.
- ANGLE, J.S.; McGRATH, S.P.; CHAUDRI, A.M.; CHANEY, R.L. & GILLER, K.E. Inoculation effects on legumes grown in soil previously treated with sewage sludge. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 25(5):575-580, 1993.
- ARAÚJO, F. F. & HUNGRIA, M. **Efeito da co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* com as células ou sobrenadantes de *Bacillus subtilis* na nodulação da soja**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina. Resumos. Londrina: IAPAR, 1994. p.128..
- ARNOLDS, E. Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 35:209-244, 1991.
- ATLAS, R. & BARTHA, R. **Microbial ecology: Fundamentals and applications**. Reading: Addison-Wesley Public. Co., Reading, 1981. 560p.
- AZIZ, T. & HABTE, M. Stimulation of mycorrhizal activity in *Vigna unguiculata* through low level fertilization of an oxisol subjected to imposed erosion. **Communication in Soil Science Plant Analysis**, New York, 5(5-6):493-505, 1990.
- BALOTA, E.L.; HUNGRIA, M. & DÖBEREINER, J. 1994. Occurrence of diazotrophic bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Plant and Soil**, The Netherlands, 1994. (no prelo)
- BARBOSA, T.M.L. & RIGITANO, R.L.O. Influência da classe e profundidade do solo na degradação do inseticida-nematicida aldicarbe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 29(6); 955-960, 1994.
- BAREA, J.M. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. **Advances in Soil Science**, 15:2-39, 1991.

- BAREA, J.M. & AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen fixing plants. **Advances in Agronomy**, New York, 36:1-54, 1983.
- BARRADAS, C. A. A. & HUNGRIA, M. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro. I-Precocidade para nodulação e fixação do nitrogênio. Turrialba, Costa Rica., 39: 236-242, 1989.
- BARROS, J.A. & DEMING, J.W. Growth of "black smoker" bacteria at temperature of at least 250 °C. **Nature**, London, 303:423-426, 1983.
- BASU, S. & BEHERA, N. The effect of tropical forest conversion on soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, 16:302-304, 1993.
- BEARE, M.H.; NEELY, C.L.; COLEMAN, D.C. & HARGROVE, W.L. Characterization of a substrate-induced respiration method for measuring fungal, bacterial and total microbial biomass on plant residues. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 34:65-73, 1991.
- BEER, J. Litter production and nutrient cycling in coffee (*Coffea arabica*) or cacao (*Theobroma cacao*) plantations with shade trees. **Agroforestry Systems**, 7:103-114, 1988.
- BEIJENRICK, M.W. Die bakterien der papilionaceen-knöllchen. **Botanik Ztg.**, 46; 725-735; 741-750; 757-771; 781-790; 797-804; 1888 a-e
- 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. Berlin: Heidelberg, 1989. 115p.
- BEVERIDGE, T.J. & DOYLE R.J. **Metals Ions and Bacteria**. New York: Willey, 1989.
- BIEDERBECK, V.O.; CAMPBELL, C.A. & SMITH, A.E. Effects of long-term 2,4 field applications on soil biochemical processes. **Journal of Environmental Quality**, Madison, 16(3):257-262, 1987.
- BITTON, G. & FREIHOFFER, V. Influence of extracellular polysaccharide on the toxicity of copper and cadmium towards *Klebsiella* sp. **Microbial Ecology**, 4:119-125, 1978.
- BLEDSE, C.S. Physiological ecology of ectomycorrhizae: Implications for field application. In: ALLEN, M.F. (Ed.). **Mycorrhizal Functioning**. New York: Chapman & Hall, 1992. p. 425-437.
- BODDEY, L. H. & HUNGRIA, M. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro: II. Senescência tardia dos nódulos. Turrialba, Costa Rica., 40: 33-39, 1990.
- BODDEY, L. H. & HUNGRIA, M. Classificação de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* em genótipo I e II baseada em características fenotípicas e genotípicas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina. Resumos. Londrina: IAPAR, 1994. p.66.
- BODDEY, R.M. Methods for quantification of nitrogen fixation associated with graminiae. **Critical Review in Plant Science**, Boca Raton, 6(3):209-266, 1987.
- BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. & DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane. **Plant and Soil**, The Netherlands, 137:111-117, 1991.

- BOHRER, T. R.; NEVES, M. C. & HUNGRIA, M. **Caracterização de genótipos de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) para a fixação biológica do nitrogênio.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina. Resumos. Londrina: IAPAR, 1994. p.36.
- BOLIN, B. & COOK, R.B. **The major biogeochemical cycles and their interactions.** New York: John Wiley & Sons, 1983. 532p.
- BOLLAG, J.M. Decontaminating soil with enzymes. **Environmental Science Technology**, Westport-Washington, 26(10):1876-1881, 1992.
- BOND, G. & WHEELER, C.T. Non-legume nodule systems. In: BERGERSEN, F.J. (Ed.). **Methods for evaluating biological nitrogen fixation.** Chichester: John Wiley & Sons, 1980. p.185-211.
- BOUWMAN, A.F. The role of soils and land use in the greenhouse effect. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Netherlands, 37:13-19, 1989.
- BOYLE, M. The environmental microbiology of chlorinated aromatic decomposition. **Journal of Environmental Quality**, Madison, 18(4):395-402, 1989.
- BOYLE, M. & PAUL, E.A. Vesicular-arbuscular mycorrhizal associations with barley on sewage-amended plots. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, 20(6):945-948, 1988.
- BOYLE, M.; FRANKEMBERGER-JUNIOR, W.T. & STOLZY, L.H. The influence of organic matter on soil aggregation and water infiltration. **Journal of Production Agriculture**, Madison, 2(4):290-299, 1989.
- BRILL, W.J. Biological nitrogen fixation. **Scientific American**, New York, 236(3):68-81, 1977.
- BRANDÃO Jr, O. & HUNGRIA, M. **Seleção de estirpes eficientes e competitivas de *Bradyrhizobium japonicum* para a inoculação da soja.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina. Resumos. Londrina: IAPAR, 1994. p.42.
- BROCK, T.D. & MADIGAN, M.T. **Biology of microorganisms.** London: Prentice-Hall International, 1988. 835p.
- BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advances in Ecological Research**, Palo Alto, 21:171-313, 1991.
- BUDOWSKI, G.; KASS, D.C.L. & RUSSO, R.O. Leguminous trees for shade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:205-222, 1984.
- BULLOW, J.F.W. von & DÖBEREINER, J. **Potential nitrogen fixation in maize genotypes in Brazil.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Washington, 72:2389-2393, 1975.
- BURNS, R.G. Extracellular enzyme-substrate interactions in soil. In: SLATER, J.H.; WHITTENBURY & WIMPENNY, J.W.T. (Eds.) **Microbes in their Natural Environments.** Cambridge: Society for General Microbiology, 1983. p. 249-298. (Symposium, 34)
- BURNS, R.G. Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. (Eds.). **Interactions of Soil Minerals With Natural Organics Microbes.** Madison: Soil Science Society of America Inc., 1986. p. 429-451.

- BURR, T.J. & CAESAR, A. Beneficial plant bacteria. **Critical Review in Plant Science**, Boca Raton, 2(1):1-20, 1984.
- CALLAHAM, D.; DEL TREDICI, P. & TORREY, J.G. Isolation and cultivation *in vitro* of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia*. **Science**, Washington, 199:899-902, 1978.
- CARDOSO, A.; POTTER, R.O. & DEDECK, R.A. Estudo comparativo da degradação de solos pelo uso agrícola no noroeste do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 27(2):349-353, 1992.
- CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P., (coords.) **Microbiologia do Solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 1992. 360p.
- CASTELLANO, M.A. & MOLINA, R. Mycorrhizae. In: LANDIS, T.D.; TINUS, R.W.; McDONALD, S.E. & BARNETT, J.P. (Eds.). **The Container Tree Nursery Manual**. Washington: Agriculture Forest Service, 1989. p.101-167.
- CATALLO, W.J. & PORTIER, R.J. Use of indigenous and adapted microbial assemblages in the removal of organic chemicals from soils and sediments. **Water Science Technology**, Great Britain, 25(3):229-237, 1992.
- CATTELAN, A. J.& HUNGRIA, M. Nitrogen nutrition and inoculation. In: FAO. **Tropical Soybean; Improvement and Production**. Rome: FAO, 1994. p.201-215.
- CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo em função de variação ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 14: 133-142, 1990a.
- CATTELAN, A.J. & VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 14: 125-132, 1990b.
- CAVALCANTE, V.A. & DÖBEREINER, J. A new acid tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. **Plant and Soil**, The Netherlands, 108:23-31, 1988.
- CHANWAY, C.P.; TURKINGTON, R & HOLL, F.B. Ecological implications of specificity between plants and rhizosphere micro-organisms. **Advances in Ecological Research**, Palo Alto, 21:121-169, 1991.
- CHAPALAMADUGU, S. & CHAUDHRY, G.R. Microbiological and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, 12(5/6):57-389, 1992.
- CHAPMAN, S.J. Inoculum in the fumigation method for soil biomass determination. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, 19(1):83-87, 1987.
- CHAUDRI, A.M.; McGRATH, S.P.; GILLER, K.E.; RIETZ, E. & SAUERBECK, D.R. Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* in soils previously treated with metal contaminated sewage sludge. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, 25(3):301-309, 1993.
- CHEN, H.; RICHARDSON, A.E. & ROLFE, B.G. Studies of the physiological and genetic basis of acid tolerance in *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 59(6):1798-1804, 1993.
- CHENU, C. Clay-or sand-polysaccharide associations as models for the interface between microorganisms and soil: water related properties and microstructure. **Geoderma**, Amsterdam, 56:143-156, 1993.

- CHUEIRE, L. M. de O. & HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja para nodulação com estirpes de crescimento rápido. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina. **Resumos**. Londrina: IAPAR, 1994. p.41.
- CLINE, G.R. Investigating effects of acidic soils on symbiotic nitrogen fixation. **Trends in Soil Science**, Trivandrum, 1:185-201, 1991.
- COELHO, A.M. **Balço de (¹⁵N) na cultura do milho (*Zea mays* L.) em um latossolo vermelho escuro fase cerrado**. Lavras: ESAL, 1987. (Tese de Mestrado).
- COLEMAN, D.C.; OADES, J.M. & UEHARA, G. (Eds.) **Dynamics of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems**. Honolulu: NifTAL Project, 1989. 249p.
- COLEMAN, D.C.; REID, C.P.F. & COLE, C.V. Biological strategies of nutrient cycling in soil systems. **Advances in Ecological Research**, Palo Alto, 13:1-55, 1983.
- COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; BALOTA, E. L. **Esporulação de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em solo sob plantio direto ou convencional e rotação de cultura**. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO SOBRE PLANTIO DIRETO NA PEQUENA PROPRIEDADE, 1, 1993, Ponta Grossa. **Resumos**. Ponta Grossa, IAPAR, 1993. p. 25.
- COOK, R. J. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, 31:53-80, 1993.
- CORDELL, C.E.; OWEN, J.H.; MARX, D.H. & FARLEY, M.E. **Ectomycorrhizal fungi-beneficial for mineland reclamation**. In: NATIONAL SYMPOSIUM ON MINING, HIDROLOGY, SEDIMENTOLOGY AND RECLAMATION, 1987, University of Kentucky. **Proceedings**. Lexington: University of Kentucky, 1987. p. 321-326.
- COUTEAUX, M.-M.; HENKINET, R. & BOTTLNER, P. Anomalies in microbial biomass measurements in acid organic soils using extractable carbon following chloroform fumigation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, 22(7):955-957, 1990.
- CRASWELL, E.T. Biological nitrogen fixation: Investments and expectations. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 14, Kyoto, 1990. **Proceedings**. Kyoto: ISSS, 1990. p. 176-181.
- CRESSER, M. & EDWARDS, T. **Matter Soil Organic; Chemistry and its Applications**. Great Britain: Cambridge University Press, 1993. p. 27-57.
- CROSSLEY, D.A.; MUELLER, B.R. & PERDUE, J.C. Biodiversity of microarthropods in agricultural soils: relations to processes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 40:37-46, 1992.
- CURL, E.A. & TRUELOVE, B. **The rhizosphere**. Berlin: Springer-Verlag, 1986, 288p.
- DAZZO, F.; SMITH, P. & HUBBELL, D. Decline of fecal coliforms and *Salmonella enteritidis* introduced in soil. **Journal of Environmental Quality**, Madison, 2:470-473, 1974.
- DEACON, J.W. & FLEMING, L.V. Interactions of ectomycorrhizal fungi. In: ALLEN, M.F. (Ed.). **Mycorrhizal Functioning**. New York: Chapman & Hall, 1992. p.249-299.
- DELORIT, R. J.; GUNN, C. R. **Seeds of continental United States legumes (Fabaceae)**. Park Falls: Weber and Sons, Lithographers, 1986.

- DEMEZAS, D.; CALDERON, F. & PAUL, E. **The phenotypic and genotypic diversity of fluorescent pseudomonads of rhizosphere and non-rhizosphere soil and crop residue.** In: Research Findings of the Center for Microbial Ecology. Michigan: Michigan State University, 1992. p.7-9.
- DIAZ-RAVIÑA, M.; CARBALLAS, T. & ACEA, M.J. Microbial biomass and metabolic activity in four acid soils. **Soils Biology and Biochemistry**, Oxford, 20(6):817-823, 1988.
- DICK, R.P.A. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 40:25-36, 1992.
- DICK, W.A. & TABATABAI, M.A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: METTING-JUNIOR (Ed.). **Soil Microbial Ecology**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. p. 95-127.
- DÖBEREINER, J. Efeito da inoculação de sementeiras de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) no estabelecimento e desenvolvimento de mudas no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 2:301-305, 1967.
- DÖBEREINER, J. & DAY, J.M. Associative symbiosis in tropical grasses. Characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF NITROGEN FIXATION, 1, 1974, Washington. **Proceedings**. Washington: Washington State University, 1974. p.518-538.
- DOELMAN, P. Resistance of soil microbial communities to heavy metals. In: JENSEN, V.; KJOLLER, A. & SORENSEN, L. H. (Eds.). **Microbial Communities in Soil**. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1986. p369-393.
- DOMMARGUES, Y.R.; BELSER, L.W. & SCHMIDT, E.L. Limiting factors for microbial growth and activity in soil. **Advances in Microbial Ecology**, 2:49-104, 1978.
- DOMSCH, K.H.; JAGNOW, G. & ANDERSON, T.H. An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms. **Residue Reviews**, 86:65-105, 1983.
- DREW, M.C. & LYNCH, J.M. Soil anaerobiosis, microorganisms, and root function. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, 18:37-66, 1980.
- DUCHESNE, L.C.; PETERSON, R.L. & ELLIS, B.E. The accumulation of plant produced antimicrobial compounds in response to ectomycorrhizal fungi: a review. **Phytoprotection**, 68:17-27, 1987.
- DUCKE, A. **Notas sobre a flora neotrófica. II. As leguminosas da Amazônia Brasileira.** Belém: IAN, 1949. 248p. (IAN, Boletim Técnico 18)
- EDWARDS, C.A. Impact of herbicides on soil ecosystems. **CRC Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, 8(3):221-257, 1989.
- EAGLESHAM, A.R.J.; ELLIS, J.M.; EVANS, W.R.; FLEISCHMAN, D.E.; HUNGRIA, M. & HARDY, R.W.F. 1990. The first photosynthetic N₂-fixing *Rhizobium*: Characteristics. In: GRESSHOFF, P.M.; ROTH, L.E.; STACEY, G. & NEWTON, W.E. (Eds.). **Nitrogen Fixation: Achievements and Objectives**. New York: Chapman and Hall, 1990. p.805-811.
- EDWARDS, C.A. The assessment of populations of soil-inhabiting invertebrates. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 34:145-176, 1991.

- ESCOSTEGUY, P.A.V.; PARCHEN, C.A.P. & SELBACH, P.A. Bactérias enteropatogênicas em compostos de lixo domiciliar, solo e planta. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 17:365-369, 1993.
- FAO-Food and fruit-bearing forest species. **Examples Latin America**, 44(3), 1986. 308p.
- FARIA, S.M. **Occurrence, infection pathways and structure of root nodules from wood species of the Leguminosae**. Dundee: University of Dundee, 1988. (Tese de Doutorado).
- FARIA, S.M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I. & SUTHERLAND, J.M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, London, 11:607-619, 1989.
- FARIA, S.M.; LIMA, H.C.; FRANCO, A.A.; MUCCI, E.S.F. & SPRENT, J.I. Nodulation of legume trees from Southeast Brazil. **Plant and Soil**, The Netherlands, 99:347-356, 1987.
- FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; MENANDRO, M.S.; JESUS, R.M. de; BAITELLO, J.B.; AGUIAR, O.T. de & DÖBEREINER, J. Survey on nodulation of indigenous legume trees in Southeast Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:143-153, 1984a.
- FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; JESUS, R.M. de; MENANDRO, M.S.; BAITELLO, J.B.; MUCCI, E.S.F.; DÖBEREINER, J. & SPRENT, J.I. Nodulating legume trees from Southeast Brazil. **New Phytologist**, London, 98:317-328, 1984b.
- FINNECY, E.E. & PEARCE, K.W. Land contamination and reclamation. In: HESTER, R. E. (Ed.). **Understanding Our Environment**. London: **The Royal Society of Chemistry**, 1986. p.172-225.
- FITTER, A.H. Costs and benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. **Experientia**, Basel-Switzerland, 47:350-361, 1991.
- FITTER, A.H.; ATKINSON, D.; READ, D.J. & USHER, M.B. (Eds.) **Ecological interactions in soil: Plants, microbes and animals**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1985. 451p.
- FLIS, S.E.; GLENN, A.R.; DILWORTH, M.J. The interaction between aluminium and root nodule bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 25(4):403-417, 1993.
- FRANCO, A.A. & DÖBEREINER, J. **Fixação biológica de nitrogênio - Curso de Agricultura Tropical**. Brasília: ABEAS, 1988. 54p. (ABEAS, Módulo 2).
- FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.; SILVA, E.M.R. da; FARIA, S.M. **Revegetação de solos degradados**. Itaguaí: EMBRAPA/CNPBS, 1992a. 11p. (EMBRAPA-CNPBS. Comunicado Técnico, 9).
- FRANCO, A.A.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M.; CAMPELLO, E.F.C. & SILVA, E.M.R. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agente de recuperação e manutenção da vida do solo: Um modelo tecnológico. In: SIMPÓSIO SOBRE ESTRUTURA, FUNCIONAMENTO E MANEJO DE ECOSSISTEMAS, 1992, Itaguaí. **Resumos**. Itaguaí: UFRRJ, 1992b.
- FRITZE, H.; KIIKKILÄ, O.; PASANEN, J. & PIETIKÄINEN, J. Reaction of forest soil microflora to environmental stress along a moderate pollution gradient next to an oil refinery. **Plant and Soil**, The Netherlands, 140:175-182, 1992.
- FUHRMANN, J.J. Population diversity groupings of soybean Bradyrhizobia. **Advances in Agronomy**, New York, 50:67-105, 1993.

- GARCIA-JÚNIOR, O. O enxofre e suas transformações microbianas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coords.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 319-327.
- GARDNER, J.H. & MALAJCZUK, N. Recolonisation of rehabilitated bauxite mine sites in Western Australia by mycorrhizal fungi. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, 24:27-42, 1988.
- GASPERI-MAGO, R.R. & TROECH, F.R. Microbial effects on soil erodibility. **Soil Science Society American Journal**, Madison, 43:765-768, 1979.
- GAUTHIER, D.L.; DIEM, H.G. & DOMMERGUES, Y.R. Tropical and subtropical actinorhizae plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:119-136, 1984.
- GILDON, A. & TINKER, P.B. A heavy metal-tolerant strain of mycorrhizal fungus. **Transaction British Mycological Society**, London, 77(3):648-649, 1981.
- GILDON, A. & TINKER, P. B. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular arbuscular mycorrhiza. **New Phytologist**, London, 95:247-261, 1983.
- GILLER, K.E.; McGRATH, S.P.; HIRSCH, P.R. Absence of nitrogen fixation in clover growth on soil subject to long term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 21:841-848, 1989.
- GLASS, D.J. Commercialization of soil microbial technologies. In: METTING-JUNIOR, F.B. (Ed.). **Soil Microbial Ecology**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. p. 595-617.
- GOLDSTEIN, A.H. Bacterial solubilization of mineral phosphates: Historical perspectives and future prospects. **American Journal of Alternative Agriculture**, Madison 1(2):51-57, 1986.
- GORING, C.A.I. & LASKOWSKI, D.A. The effects of pesticides on nitrogen transformations in soils. In: STEVENSON, F.J. (Ed.) **Nitrogen in Agricultural Soils**. Madison: ASA, 1982. p. 689-720.
- GRACE, C. & GRISI, B.M. Soil microbial biomass and organic matter dynamics in northern European and tropical soils at elevated temperature. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MICROBIAL ECOLOGY, 6, Spain, 1992. **Abstracts**. Spain, 1992. p103.
- GRAINGER, J.M. & LYNCH, J.M. **Microbiological methods for environmental biotechnology**. London: Academic Press, 1984. 421p. (The Society for Applied Bacteriology, 19).
- GRAY, T.R.G. & WILLIAMS, S.T. **Soils microorganisms**. London: Longman, 1971a. 240p.
- GRAY, T.R.G. & WILLIAMS, S.T. Microbial productivity in soil. In: HUGHES, D.E. & ROSE, A. H. (Eds.). **Microbes and biological productivity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1971b. p. 255-286.
- GREAVES, M.P.; DAVIES, H.A.; MARSCH, J.A.P.; WINGFIELD, G.I. Herbicides and soil microorganisms. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, 4:1-38, 1976.
- GRESSHOFF, P.M. (Ed.) **Molecular biology of symbiotic nitrogen fixation**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1990. 269p.

- GRIFFIOEN, W.A.J. & ERNST, W.H.O. The role of VA mycorrhiza in the heavy metal tolerance of *Agrostis capillaris* L. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 29:173-177, 1990.
- GRISI, B.M. Biodinâmica de solo cultivado com cacauzeiros sombreados e ao sol. **Revista Theobroma**, Ilhéus, 6(4):87-99, 1976.
- GRISI, B.M. **Biomassa e necessidades energéticas das populações microbianas do solo**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 21, 1988, Campinas. **Anais**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1988. p.353-363.
- GRISI, B.M. & GRAY, T.R.G. Biomassa microbiana de solo estimada do biovolume com o uso da microscopia de fluorescência. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 9(2):131-138, 1985.
- GRISI, B.M. & GRAY, T.R.G. Comparação dos métodos de fumigação, taxa de respiração em resposta à adição de glicose e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana dos solos. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 10(2):109-115, 1986.
- GUNN, A. & CHERRETT, J.M. The exploitation of food resources by soil meso and macro invertebrates. **Pedobiologia**, Paris, 37:303-320, 1993.
- HALL, I.R. & ARMSTRONG, P. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of white clover, lotus and ryegrass in some eroded soils. **N.Z. Journal of Agricultural Research**, Wellington, 22:479-484, 1979.
- HARDMAN, D.J. Biotransformation of halogenated compounds. **Critical Reviews in Biotechnology**, 11(1):1-40, 1991.
- HARLEY, J.L. **Ectomycorrhizas as nutrient absorbing organs**. Proceedings Royal Society of London, London, 203:1-21, 1978.
- HARLEY, J.L. & SMITH, S.E. **Mycorrhizal symbionts**. London: Academic Press, 1983. 483p.
- HATTORI, T; HATTORI, R. The physical environment in soil microbiology: an attempt to extend principles of microbiology to soil microorganisms. **Critical Reviews Microbiology**, Boca Raton, 4:423-461, 1976.
- HEGGO, A.; ANGLE, J.S. & CHANEY, R.L. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 22:865-869, 1990.
- HEIJNEN, C.E.; VAN VENN, J.A. A determination of protective microhabitats for bacteria introduced into soil. **FEMS Microbial Ecology**, 83:73-80, 1991.
- HEIJNEN, C.E.; CHENU, C. & ROBERT, M. Micromorphological studies on clay-amended and unamended loamy sand relating survival of introduced bacteria and soil structure. **Geoderma**, Amsterdam, 56:195-207, 1993.
- 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, 59(1):129-133, 1993.
- HOWIEDSON, J.G.; ROBSON, A.D. & EWING, M.A. External phosphate and calcium concentration, and pH, but not the products of rhizobial nodulation genes affect the attachment of *Rhizobium meliloti* to roots of annual medics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 25(5):567-573, 1993.

- HUBBELL, D.H. Soil microbiology and autecological studies. In: ROBERT, L. T. (Ed.). **Microbial Autecology: A method for Environmental Studies**. New York: John Wiley & Sons Inc., 1986. p. 233-248.
- HUNGRIA, M. Sinais moleculares envolvidos na nodulação das leguminosas e trocados entre bactérias e as plantas hospedeiras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 1994. (no prelo).
- HUNGRIA, M. & FRANCO, A. A. Effects of high temperatures on nodulation and N₂ fixation in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Soil**, The Netherlands, 149: 95-102, 1993.
- HUNGRIA, M. & NEVES, M. C. P. Cultivar and *Rhizobium* strain effects on nitrogen fixation and transport in *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Soil**, The Netherlands, 103: 111-121, 1987.
- HUNGRIA, M. & URQUIAGA, S. Transformações microbianas de outros elementos (Potássio, micronutrientes e metais pesados. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coords.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 329-340.
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. L. & CATTELAN, A.F. **Ecologia microbiana em solos sob cultivo na região sul do Brasil**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina.. **Resumos**. Londrina: IAPAR, 1994a. Resumo 22.
- HUNGRIA, M.; ELLIS, J.M.; EAGLESHAM, A.R.J. & HARDY, R.W.F. Light-stimulated ¹⁴CO₂ uptake and acetylene reduction by bacteriochlorophyll containing stem nodule isolate BTAi 1. **Biology and Fertility of Soils**, Heildeberg, 15: 208-214, 1993b.
- HUNGRIA, M.; FRANCO A. A & SPRENT, J. I. New sources of high temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, The Netherlands, 149:103-109, 1993a.
- HUNGRIA, M; HARDY, R. W. F. & EAGLESHAM, A. R. J. Physiological comparisons between root and stem nodules of *Aeschynomene scabra* and *Sesbania rostrata*. **Plant and Soil**, 139: 7-13, 1992.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T., SUHET, A. R. & PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio na soja. In: ARAUJO, R. S. & HUNGRIA, M. **Avanços obtidos nos estudos sobre microrganismos do solo de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. (no prelo).
- HUNT, H.W.; STEWART, J.W.B. & COLE, C.V. A conceptual model for interactions among carbon, nitrogen, sulphur, and phosphorus in grasslands. In: BOLIN, B. & COOK, R. B. (eds.). **The Major biogeochemical cycles and their interactions**. New York: SCOPE21, 1983. p. 303-322.
- HUSSAIN, A.; HUSSAIN, A.; HAYU, M.A. & NASIR, M. The leaves of leguminous trees as nutrients for agricultural crops. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports**, Hawaii, 6: 20, 1988.
- IGUE, K. & PAVAN, M.A. **Uso eficiente de adubos orgânicos**. In: SIMPÓSIO SOBRE FERTILIZANTES NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 1984, Brasília. **Anais**. Brasília: EMBRAPA, 1984. p. 383-418.

- 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**, Durham, N.C., 55(1):119-140, 1985.
- JACKSON, W. & PIPER, J. The necessary marriage between ecology and agriculture. **Ecology**, Durham, N.C., 70(6):1591-1593, 1989.
- JAIN, D.K.; BEYER, D. & RENNIE, R.J. Dinitrogen fixation (C_2H_2 reduction) by bacterial strain at various temperatures. **Plant and Soil**, The Netherlands, 103:233-237, 1987.
- JANOS, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. **Biotropica**, Washington, 12:56-64, 1980.
- JANOS, D.P. Mycorrhiza applications in tropical forestry: are temperate-zone approaches appropriate? In: NG, S.P. (Ed.). **Trees and Micorhizae**. Malasya: Forest Research Institute, 1988. p. 133-188.
- JASPER, D.A.; ABBOTT, L.K. & ROBSON, A.D. The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetations types. **New Phytologist**, London, 118:471-476, 1991.
- JASTROW, J.D. & MILLER, R.M. Methods for assessing the effects of biota on soil structure. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 34:279-303, 1991.
- JEFFRIES, P. Use of mycorrhizae in agriculture. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, 5(4):319-357, 1987.
- JENKINSON, D.S. & LADD, J.N. Microbial biomass in soil: measurement turnover. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N. (Eds.). **Soil Biochemistry**. 5. New York: Marcel Dekker Inc., 1981. p. 415-471.
- JENKINSON, D.S. & POWLSON, D.S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 8(2):209-213, 1976.
- JENKINSON, D.S. & RAYNER, J.H. The turn over of soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments. **Soil Science**, Baltimore, 123:298-305, 1977.
- JENKINSON, D.S.; ADAMS, D.E. & WILD, A. Model estimates of CO₂ emissions from soil in response to global warming. **Nature**, London, 351:304-306, 1991.
- JHA, D.K.; SHARMA, G.D.; MISHRA, R.R. Ecology of soil microflora and mycorrhizal symbionts in degraded forests at two altitudes. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, 12:272-278, 1992.
- JOERGENSEN, R.G. & BROOKES, P.C. Ninhydrin-reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 22(8):1023-1027, 1990.
- JOERGENSEN, R.G.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, 22(8):1129-1136, 1990.
- JOHNSON, N.C. & PFLEGER, F.L. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. In: BETHENFALVAY, G.J. & LINDERMAN, R.G. (Co-eds.). **Mycorrhizae in Sustainable Agriculture**. Madison: ASA, 1992. p.71-99. (ASA, 54).

- JOHNSON, N.C.; TILMAN, D. & WEDIN, D. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. **Ecology**, Durhan, 73(6):2034-2042, 1992.
- JUMA, N.G. Interrelationships between soil structure (texture, soil biota) soil organic matter and crop production. **Geoderma**, Amsterdam, 57:03-30, 1993.
- KÄÄRIK, A.A. Decomposition of wood. In: DICKINSON, C.H. & PUGH, G.J.F. (Eds.). **Biology of plant litter decomposition**. London: Academic Press, 1974. p.129-174.
- KEENEY, D.R. Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution. In: STEVENSON, F.J. (Ed.). **Nitrogen in Agricultural Soils**. Madison: ASA, 1982. p. 605-649. (ASA, 22).
- KEYSER, H.H. & MUNNS, D.N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminium and phosphate. **Soil Science Society American Journal**, Madison, 43:519-523, 1979.
- KIRKBRIDE-JÚNIOR, J.H. Legumes of cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:23-46, 1984.
- KISS, S.; DRAGAN-BULARDA, M. & PASCA, D. Enzymology of the recultivation of technogenic soils. **Advances in Agronomy**, New York, 42:229-278, 1989.
- KLEIN, D.A. & THAYER, J.S. Interactions between soil microbial communities and organometallic compounds. In: BOLLAG, J.M. & STOTSKY, G.(Eds.). **Soil Biochemistry**. 6. New York: Marcell Dekker Inc., 1990. p.431-481.
- KLEIN, D.A.; SALZWEDEL, J.L. & DAZZO, F.B. Microbial colonization of plant roots. In: NAKAS, J.P. & HAGEDORN, C. (Eds.). **Biotechnology of Plant Microbe Interactions**. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990. p.189-333.
- KLINGE, H. Bilanzierung von hauptnährstoffen in okowystem tropischer regenwald. **Biogeografia**, Manaus, 7:59-99, 1975.
- KOBAYASHI, H. & RITTMANN, B.E. Microbial removal of hazardous organic compounds. **Environmental Science & Technology**, Westport-Washington, 16:170-183, 1982.
- KOIDE, R.T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **New Phytologist**, London, 117:365-386, 1991.
- KOLLING, J.; SCHOLLES, S.; MENDES, N. G. & VACCA, M. **Efeitos de técnicas de inoculação e formas de inoculantes sobre a simbiose em soja**. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, 18, 1990, Passo Fundo. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1990. (Trabalho oral).
- KOOMEN, I.; McGRATH, S.P. & GILLER, K.E. Mycorrhizal infection of clover is delayed in soils contaminated with heavy metals from past sewage sludge applications. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 22(6):871-873, 1990.
- KORMANIK, P.P. & SCHULTZ, R.C. **Significance of sewage sludge amendments to borrow pit reclamation with sweetgum and fescue**. Ashville: Southeastern Forest Experiment Station Research, 1985. 7 p. (Note, SE-329).
- KOSKE, R.E. & POLSON, W.R. Are VA micorrizae required for sand dune stabilization?. **Biosciences**, Washington, 34(7):420-424, 1984.
- KRIEG, N.R. & HOLT, J.G. (Eds.) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 1. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984.

- KUCEY, R.M.N.; JANZEN, H.H. & LEGGETT, M.E. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. **Advances in Agronomy**, New York, 42:199-228, 1989.
- KUNISHI, H.M.; BANDEL, V.A.; MILLNER, P.D. & ANDERSON, E.A. Soil fumigation effects on growth and phosphorus uptake by corn. **Communication in Soil Science Plant Analysis**, 20:1545-1555, 1989.
- LADD, J.N.; FOSTER, R.C. & SKJEMSTAD, J.O. Soil structure: Carbon and nitrogen metabolism. **Geoderma**, Amsterdam, 56:401-434, 1993.
- LAL, R. **Role of no-till farming in sustainable agriculture in tropics**. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO SOBRE PLANTIO DIRETO NA PEQUENA PROPRIEDADE, 1, 1993, Ponta Grossa. **Anais**. Ponta Grossa: IAPAR, 1994. p. 29-62.
- LAL, R. & PIERCE, F.J. (Eds.). **Soil Management for Sustainability**. Ames: Soil and Water Conservation Society, 1991. 189p.
- LAL, R. & STEWART, B.A. Soil degradation: A global threat. **Advances in Soil Science**, 14, 1989.
- LANDMEYER, J.E.; BRADLEY, P.M. & CHAPELLE, F.H. Influence of Pb on microbial activity in Pb-contaminated soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 25(10):1465-1466, 1993.
- LAVELLE, P.; BLANCHART, E.; MARTIN, S.; SPAIN, A.; TOUTAIN, F.; BAROIS, I. & SCHAEFER, R. A Hierarchical model for decomposition in terrestrial ecosystems: application to soils of the humid tropics. **Biotropica**, San José, 25(2):130-150, 1993.
- LESUER, D.; DIEN H.G.; DIANDA, M. & LE ROUX, C. Selection of *Bradyrhizobium* strains and provenances of *Acacia mangium* and *Faidherbia albida*. Relationships with their tolerance to acidity and aluminium. **Plant and Soil**, The Netherlands, 149(2):159-166, 1993.
- LIBERTA, A.E. & ANDERSON, R.C. Comparison of vesicular-arbuscular species composition, spore abundance and inoculum potential in an Illinois prairie and adjacent agricultural sites. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, 113(2):178-182, 1986.
- LIMA, E.; BODDEY, R.M. & DÖBEREINER, J. Quantification of biological nitrogen fixation associated with sugar cane using a ¹⁵N acided nitrogen balance. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 19:165-170, 1987.
- LINDAU, C.W.; BOLLICH, P.K.; DELAUNE, R.D.; PATRICK-Jr., W.H. & LAW, V.J. Effect of urea fertilizer and environmental factors on CH₄ emissions from a Louisiana, USA rice field. **Plant and Soil**, The Netherlands, 136:195-203, 1991.
- LONG, S.R. *Rhizobium*-legume nodulation: Life together in the underground. **Cell**, 56:203-214, 1989.
- LOUREIRO, A.A.; SILVA, M.F. & ALENCAR, J.C. **Essências madeireiras da Amazônia**, 1, 2. Brasília: CNPq/INPA/SUFRAMA, 1979.
- LOUREIRO, M. de F.; HUNGRIA, M.; SAMPAIO, M. J. A.; FRANCO, A. A. & BALDANI, J. I. Photosynthetic characteristics of strains of rhizobia isolated from stem nodules of *Aeschynomene fluminensis* grown in the Pantanal region of Brazil. In: PALACIOS, R.; MORA, J. & NEWTON, W. (Co-Eds.). **New Horizons in Nitrogen Fixation**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1993. p.629.

- LOWENDORF, H.S. & ALEXANDER, M. Identification of *Rhizobium phaseoli* strains that are tolerant or sensitive to soil acidity. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 45:737-742, 1983.
- LUSSENHOP, J. Mechanisms of microarthropod-microbial interactions in soil. **Advances in Ecological Research**, London, 23:01-33, 1992.
- LYNCH, J.M. Interactions between biological processes, cultivation and soil structure. **Plant and Soil**, The Netherlands, 76:307-318, 1984.
- LYNCH, J.M. & HOBBIIE, J.E. **Microorganisms in action: Concepts and applications in microbial ecology**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988. 363p.
- LYNCH, J.M. & PANTING, L.M. Measurement of the microbial biomass in intact cores of soil. **Microbial Ecology**, 7(2):229-234, 1981.
- MAGALHAES, F.M.M. Present state of knowledge on biological nitrogen fixation in Amazonia. In: SYMPOSIUM ON THE HUMID TROPICS, 1., 1986, Belém. **Proceedings**, 1, Climate and the Soil. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. p.499-512.
- MAGALHAES, F.M.M. & SILVA, M.F. Associações *Rhizobium*-leguminosas no estado de Rondônia. **Acta Amazônica**, Manaus, 16/17:7-17, 1986/1987.
- MAGALHAES, 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. **Acta Amazônica**, Manaus, 12:509-514, 1982.
- MAGALHAES, L.M.S. & BLUM, W.E.H. Nodulação e crescimento de *Cedrelinga catenaeformis* Ducke em plantios experimentais na região de Manaus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:159-164, 1984.
- MAGALHAES, L.M.S. & FERNANDES, N.P. Experimental stands of leguminous forests in the Manaus region. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:75-79, 1984.
- MARTIN, J.P. & FOTCH, D.D. Biological properties in soils. In: ELLIOT, L.F. & STEVENSON, F.J. (Eds.). **Soils for Management of Organic Waste Waters**. Madison: American Society Agronomy, 1977. p.115-169.
- MARX, D.H. **The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment; ecophysiology of mycorrhizae of forest trees**. Sweden: The Marcus Wallenberg Foundation, 1991. p.54-90.
- MARX, D.H. & RUEHLE, J.L. Ectomycorrhizae as biological tools in reclamation and revegetation of waste lands. In: MAHADEVAN, A.; RAMAN, N. & NATARAJAN, K. (Eds.). **Micorrhizae for Green Asia. THE ASIAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE**, 1, 1989. **Proceedings**. p.336-344.
- MASCHIO, L.M.A.; SCALZO, M.S.; GAIAD, S.; GRIGOLETTI-Jr., A. Bracatinga (*Mimosa scabrella*), eucalipto (*Eucalyptus viminalis*) e pinus (*Pinus taeda*) na recuperação da biodiversidade, a nível microbiológico de solos degradados. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, Curitiba, 1992. **Anais**. Curitiba: UFPR, 1992. p.457-462.
- MATERON, L.A.; WEAVER, R.W. & PLAPP, F.W. Qualitative evaluation of the effect of a soil detoxicant on aldicarb persistence. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, New York, 38:104-108, 1987.

- MATOS, A.O. Ocorrência de nodulação espontânea em leguminosas florestais nativas de Capitão Poço- PA. In: SYMPOSIUM ON THE HUMID TROPICS, 1, 1986, Belém. **Proceedings**, 1, Climate and Soil. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1986. p.287-294.
- MAYNE, B.C. Photosynthesis and the biochemistry of nitrogen fixation. In: ALEXANDER, M. (Ed.). **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Plenum Press, 1984. p.225-242.
- MAZUR, N; VELLOSO, A.C.X.; SANTOS, C.A. Efeito do composto de resíduo urbano no pH e alumínio trocável em solo ácido. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 7:157-159, 1983.
- MAZZARINO, M.J.; SZOTT, L. & JIMENEZ, M. Dynamics of soil total C and N, microbial biomass, and water-soluble C in tropical agroecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 25(2):205-214, 1993.
- McCREIGHT, J.D. & SCHROEDER, D.B. Inhibition of growth of nine ectomycorrhizal fungi by cadmium, lead, and nickel *in vitro*. **Environmental and Experimental Botany**, 22(1):1-7, 1982.
- McGILL, W.B., ROWELL, M.J. & WESTLAKE, D.W.S. Biochemistry, ecology, and microbiology of petroleum components in soil. In: PAUL, E. A. & LADD, J. N. (Eds.). **Soil Biochemistry**, 5. New York: Marcel Dekker Inc., 5:229-296, 1981.
- McGRATH, R.S. Effects of heavy metals in sewage sludge on soil microbes in agricultural ecosystems. In: ROSS, S. M. (Ed.). **Toxic metals in soil-plant systems**. Chichester: Willey, 1994. (no prelo).
- McGRATH, S.P.; BROOKES, P.C.; GILLER, K.E. Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 20:415-424, 1988.
- METTING-JÚNIOR, F.B. (Ed.) **Soil microbial ecology; applications in agricultural and environmental management**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. 648p.
- MILLER-Jr, G.T. **Living in the environment**. California: Wadworth Publishing Co., 1990. 620p.
- MILLER, R.M. & JASTROW, J.D. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. In: ALLEN, M. F. (Ed.). **Mycorrhizal Functioning**. New York: Hall Publ., 1992a. p.438-467.
- MILLER, R.M. & JASTROW, J.D. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. In: ASA (Ed.). **Mycorrhizae in Sustainable Agriculture**. Madison: ASA, 1992b. p.29-44. (ASA, 54).
- MINCHIN, F. R.; SUMMERFIELD, R. J.; HADLEY, P.; ROBERTS, E. H. & RAWSTHORNE, S. Carbon and nitrogen nutrition of nodulated roots of grain legumes. **Plant, Cell & Environment**, 4:25-26, 1981.
- MITCHELL, M.J. & NAKAS, J.P.(Eds.). **Microfloral and Faunal Interactions in Natural and Agro-ecosystems**. The Netherlands: Martinus Nijhoff, 1986. 505 p.
- MITRA, R.S.; GRAY, R.H.; CHIN, B. & BERNSTEIN, I.A. Molecular mechanisms of accommodation in *Escherichia coli* to toxic levels of Cd²⁺. **Journal of Bacteriology**, Washington, 121:1180-1188, 1975.
- MOORMAN, T.B. A review of pesticide effects on microorganisms and microbial processes related to soil fertility. **Journal Production Agriculture**, 2(1):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, 35:311-325, 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**. Itaguaí: UFRRJ, 1991. (Tese de Doutorado).
- MOREIRA, F.M.S. & FRANCO, A.A. Uso de goma extraída de vagens de *Parkia nitida* Miquel para inoculação e revestimento de sementes de leguminosas. **Turrialba**, Costa Rica, 41(4):524-527, 1991.
- MOREIRA, F.M.S.; SILVA, M.F. & FARIA, S.M. Occurrence of nodulation in legume species in the Amazon Region of Brazil. **New Phytologist**, London, 121:563-570, 1992.
- 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**, Washington, 16:135-146, 1993.
- MOROTE, C.G.B.; VIDOR, C.; MENDES, N.G. & PEREIRA, J.S. Melhoria da nodulação da soja pela cobertura do solo e inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 14:143-150, 1990.
- MUSUMECI, M.R. Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. & NEVES, M.C.P. (Coords.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.341-360.
- MYROLD, D.D. & NASON, G.E. Microorganisms as mediators of acid deposition effects in forest soils. **Trends in Soil Science**, Trivandrum, 1:1-13, 1991.
- NAHAS, E. **Ciclo do fósforo: transformações microbianas**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1991. 67p. (Apostila).
- NAKAS, J.P. & HAGEDORN, C. **Biotechnology of plant-microbe interactions**. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990. 348 p.
- NANNIPIERI, P.; GREGO, S. & CECCANTI, B. Ecological significance of the biological activity in soil, In: BOLLAG, J.M. & STOTSKY, G.F. (Eds.). **Soil Biochemistry**, 6. New York: Marcel Dekker Inc., 1990. p.293-355.
- NAS-NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Alternative agriculture**. Washington: National Academy Press, 1989. 448 p.
- NEVES, M. C. P.; HUNGRIA, M. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. **CRC Critical Reviews in Plant Science**, Boca Raton, 6:267-321, 1987.
- NEWMAN, E.I. Root microorganisms: their significance in the ecosystem. **Biological Review**, Cambridge, 53:511-554, 1978.
- NEWMAN, E.I. Mycorrhizal links between plants: Their functioning and ecological significance. **Advances in Ecological Research**, Palo Alto, 18:243-270, 1988.
- NICHOLS, O.G.; KOCH, J.M.; TAYLOR, S. & GARDNER, J. Conserving biodiversity. In: AUSTRALIAN MINING INDUSTRY COUNCIL ENVIRONMENTAL WORKSHOP, 1991, Perth. **Proceedings**. Perth: University of Western Australia, 1991. p. 116-136.

- NIERZWICKI-BAUER, S.A. *Azolla-Anabaena* symbiosis: Use in agriculture. In: RAI, A. N. (Ed.). **CRC Handbook of Symbiotic Cyanobacteria**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1990. (Chapter 5).
- NISHI, C. Y. M. & HUNGRIA, M. Eficiência da fixação biológica do N₂ e capacidade competitiva das estirpes SEMIA 566, SEMIA 586, SEMIA 5079 e SEMIA 5080 inoculadas em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1993. 13p. (Pesquisa em andamento, 15).
- NISHI, C. Y. M. & HUNGRIA, M. Capacidade competitiva das estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 566, SEMIA 586 e suas variantes genéticas SEMIA 5079 e SEMIA 5080. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina. **Resumos**. Londrina: IAPAR, 1994. p. 37.
- OCHOA, J.A. & BROOKES, P.C. An evaluation of methods for measuring the microbial biomass in soils following recent additions of wheat straw and the characterization of the biomass that develops. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 22(5):685-694, 1990.
- OLIVEIRA, L. A. de; SMYTH, T. J. & BONETTI, R. Efeito das adubações anteriores na nodulação e rendimento da soja e do feijão-caupi num latossolo amarelo da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 16: 195-201, 1992.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T.; VILELA, E.A.; GAVILANES, M.L. & CARVALHO, O.A. Woody flora and soils of six areas of semideciduous montane forest in Southern Minas Gerais, Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, Edingburgh, 1994. (submetido).
- OLSON, G.J. & KELLY, R.M. Microbiological metal transformations: Biotechnological applications and potential. **Biotechnology Progress**, 2(1):01-15, 1986.
- PANKOW, W.; BOLLER, T. & WIENKEN, A. The significance of mycorrhizas for protective ecosystems. **Experientia**, Basel-Switzerland, 47:391-394, 1991.
- PARKINSON, D. & COLEMAN, D.C. Microbial communities, activity and biomass. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 34:03-33, 1991.
- PARKINSON, D.; GRAY, T.R.G. & WILLIAMS, S.T. **Methods for studying the ecology of soil microorganisms**. Oxford: Blackwell, 1971. 116 p. (IBP Handbook, 19).
- PARR, J.F. & WILSON, G.B. Recycling organic wastes to improve soil productivity. **HortScience**, Alexandria-Virginia, 15:162-166, 1980.
- PARR, J.F.; GARDNER, W.R. & ELLIOT, L.F. (Eds.) **Water potential relations in soil microbiology**. Madison: Soil Science Society of America, 1981. 151 p. (SSSA, 9).
- PARROTTA, J.A. The role of plantation forests in rehabilitating degraded tropical ecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 41:115-133, 1992.
- PARTON, W.J.; STEWART, J.W.B. & COLE, C.V. Dynamics of C, N, P and S in grassland soils: A model. **Biogeochemistry**, Netherlands, 5:109-131, 1988.
- PAUL, E.A. Towards the year 2000: Directions for future nitrogen research. In: WILSON, J. R. (Ed.). **Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems**. Oxon-UK: C.A.B. International, 1988. p. 417-425.
- PAUL, E.A. & CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. New York: Academic Press Inc., New York, 1989. 273 p.

- PAUL, E.A. & ROBERTSON, G.P. Ecology and the agricultural sciences: A false dichotomy?. **Ecology**, Durhan-N.C., 70(6):1594-1597, 1989.
- PAULA, M.A.; URQUIAGA, S.; SIQUEIRA, J.O. & DÖBEREINER, J. Arbuscular mycorrhizal fungi and diazotrophic bacteria on nutrition and growth of sweet potato *Ipomea batatas*. **Biology and Fertility of Soils**, Heilderberg, 14:61-66, 1992.
- PEIXOTO, R.T. dos G.; FRANCO, A.A. & ALMEIDA, D.L. Efeito do lixo urbano compostado com fosfato natural na nodulação, crescimento e absorção de fósforo em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 22(11/12):1117-1132, 1987.
- PERES, J. R. R.; MENDES, I. C.; SUHET, A. R. & VARGAS, M. A. T. Eficiência e competitividade de estirpes de rizóbio para soja em solos de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas,, 17: 357-363, 1993.
- PERRY, D.A. & AMARANTHUS, M.P. The plant-soil bootstrap: Microorganisms and reclamation of degraded ecosystems. In: BERGER, J.J. (Ed.). **Environmental Restoration, Science and Strategies for Restoring the Earth**. England: Island Press, 1990. p.94-102.
- PERRY, D.A.; MOLINA, R. & AMARANTHUS, M.P. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: Current knowledge and research needs. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, 17(8):929-940, 1987.
- PERSSON, T.; BÅÅTH, E.; CLARHOLM, M.; LUNDKVIST, H; SODERSTROM, B.E. SOHLENIUS, B. Trophic structure, biomass dynamics and carbon metabolism of soil organisms in a Scots pine forest. **Ecological Bulletin**, 32:419-459, 1980.
- PETTERSSON, A. Effect of aluminum on the physiology and structure of *Anabaena cylindrica*. Department of Plant Physiology, Uppsala: University of Uppsala, 1983. 25p. (Relato mimeografado).
- PFENNING, L.; EDUARDO, B. de P. & CERRI, C.C. Os métodos de fumigação-incubação e fumigação-extração na estimativa da biomassa microbiana de solos da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, 16:31-37, 1992.
- POSTGATE, J. R. & HILL, S. Nitrogen fixation. In: LYNCH, J.M.; POOLE, N.J. **Microbial ecology**; a concept approach. Oxford: Blackwell, 1979. p.191-213.
- POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J.(eds.). **VA mycorrhiza**. Boca Raton: CRC Press Inc., 1984, 234p.
- POWLSON, D.S.; BROOKES, P.C. & CHRISTENSEN, B.T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 19(2):159-164, 1987.
- PRANCE, G.T.; SILVA, M.F. **Árvores de Manaus**. Brasília: CNPq/INPA, 1975. 105 p.
- RABIN, L.B. & PACOVSKY, R.S. Reduced larva growth of two Lepoptera (Noctridae) on excised leaves of soybean infected with a mycorrhizal fungus. **Journal Economical Entomology**, Maryland, 78:1358-1363, 1985.
- RAICH, J.W. & NADELHOFFER, K.J. Belowground carbon allocation in forest ecosystems: Global trends. **Ecology**, Durhan-N.C., 70(5):1346-1354, 1989.
- READ, D.J. Mycorrhizal fungi in natural and semi-natural plant communities. In: THE MARCUS WALLEMBERG FOUNDATION SYMPOSIUM, Sweden, 1991, **Proceedings**. Sweeden: Marcus Wallemberg Foundation, 1991. p.27-53.

- REDDY, C.A. Physiology of lignin degradation. In: KLUG, M.J. & REDDY, C.A. (Eds.), **Microbial Ecology**. Washington: American Society for Microbiology, 1984. p558-571.
- REDDY, J.B.; CHENG, C.N. & DUNN, S.J. Survival of *Rhizobium japonicum* in soil-sludge environment. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 15:343-345, 1983.
- RHODES, L.M. & GERDEMANN, J.W. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. **New Phytologist**, London, 75:555-561, 1975.
- RIBEIRO, M.N.S.; ZOGHBI, M.G.B.; SILVA, M.L.; GOTTIEB, O.R.; REZENDE, C.M.M. **Cadastro fotoquímico brasileiro**. Manaus: INPA/FUA, 1987. 112p.
- RICHARDS, B.N. **Introduction to the soil ecosystem**. New York: Longman, 1974. 266 p.
- ROBARGE, W.P. & JOHNSON, D.W. The effects of acidic deposition on forested soils. **Advances in Agronomy**, New York, 47:39-43, 1992.
- RITZ, K.; DIGHTON, J. & GILLER, K. E. **Beyond the biomass**. Chichester: John Wiley & Sons, 1994. 275 p.
- ROBERT, M. & BERTHELIN, J. Role of biological and biochemical factors in soil mineral weathering. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. (Eds.). **Interaction of Soil Minerals With Natural Organics and Microbes**. Madison: Soil Science Society of America Inc., 1986. p.453-495.
- RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; GARCIA, S. & SUBRAMANIAN, P. **La fijación de nitrógeno atmosférico; una biotecnología en la producción agraria**. Salamanca: CSIC, 1985. 72p.
- ROSS, D.J. Influence of sieve mesh size on estimates of microbial carbon and nitrogen by fumigation-extraction procedures in soil under pasture. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 24(4):343-350, 1992.
- RUSSO, R.O. & BERLYN, G.P. The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. **Journal of Sustainable Agriculture**, 1(2):19-41, 1990.
- SAARI, L. L. & LUDDEN, P. W. The energetics and energy costs of symbiotic nitrogen fixation. In: KOSUGE, T.; NESTER, E. W. (Ed.). **Plant-Microbe Interactions; Molecular and Genetic Perspectives**. New York: Macmillan Publishing Company, 1986. p.147-193.
- SAFIR, G.R. (Ed.) **Ecophysiology of VA mycorrhizal plants**. CRC Press, Boca Raton. 1987, 224p.
- SAFIR, G.R.; SIQUEIRA, J.O. & BURTON, T.M. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in a wastewater-irrigated oldfield ecosystem in Michigan. **Plant and Soil**, The Netherlands. 121:187-196, 1990.
- SAMPAIO, E.V.S.B. & SALCEDO, I.H. Decomposição de palha de milho marcada e incorporação de ^{14}C à biomassa microbiana de um latossolo vermelho-amarelo. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 6(1):29-32, 1982a.
- SAMPAIO, E.V.S.B. & SALCEDO, I.H. Efeito da adição de nitrogênio e palha (^{14}C) liberação de CO_2 e formação de biomassa microbiana de um latossolo vermelho-amarelo. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 6(3):177-181, 1982b.
- SANGINGA, N. Nitrogen fixation by trees and its contribution to the nitrogen status of soils or associated crops. In: IFS (Ed.). **Interactions plantes-microorganismes**. Dakar: Fondation Internationale pour la Science, 1992. p.14-32.

- SANGINGA, N.; MULONGOY, K. & SWIFT, M.J. Contribution of soil organisms to the sustainability and productivity cropping systems in the tropics. **Agriculture Ecosystems Environmental**, Amsterdam, 41:135-152, 1992.
- SANTOS, J. C. F. Comportamento de propriedades físicas e químicas de dois latossolos roxos sob diferentes sistemas de rotação de cultura em planto direto. Lavras: ESAL, 1993. (Tese de Mestrado).
- SANTOS, C.E.R.S.; STANFORD, N.P. & SANTOS, D.R. Efeito do composto do lixo urbano suplementado com fósforo e da inoculação com *Bradyrhizobium* em caupi. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 16:25-30, 1992.
- SHANNON, M.J.R. & UNTERMAN, R. Evaluating bioremediation: Distinguishing fact from fiction. **Annual Review Microbiology**, Palo Alto, 47:715-738, 1993.
- SHEPPARD, S.C.; GAUDET, C.; SHEPPARD, M.I.; CURETON, P.M. & WONG, M.P. The development of assessment and remediation guidelines for contaminated soils, a review of a science. **Canadian Journal Soil Science**, Ottawa, 72:359-394, 1992.
- SILVA, G.G. & FRANCO, A.A. Selection of *Rhizobium* spp strains in culture medium for acid soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 19:169-173, 1984.
- SILVA, M.F.; CARREIRA, L.M.M.; TAVARES, A.S.; RIBEIRO, I.C.; SARDIM, M.A.G.; LOBO, M.G.A. & OLIVEIRO, S. Leguminosas da Amazônia Brasileira, lista prévia. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 39, 1989. **Anais. SBB**, 2(1):193-237, 1989.
- SIMON, L.; BOUSQUET, J.; LÉVESQUE, R.C. & LALONDE, M. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. **Nature**, London, 363:67-69, 1993.
- SIMS, G.K. Biological degradation of soil. **Advances in Soil Science**, New York, 24:289-330, 1989.
- SINGH, J.S.; RAGHUBANSHI, A.S.; SINGH, R.S. & SRIVASTAVA, S.C. Microbial biomass acts as a source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. **Nature**, London, 338:449-500, 1989.
- SINGLETON, P.W.; BOHLOOL, B.B. & NAKÃO, P.L. Legume response to rhizobial inoculation in the tropics: Myths and realities. In: LAL, R. & SANCHEZ, P.A. (Eds.). **Myths and Science of Soils of the Tropics**. Madison: ASA, 1992. p.135-155.
- 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. (Eds.). **A Responsabilidade Social da Ciência do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira do Solo, Campinas, 1988. p.337-352.
- SIQUEIRA, J.O. Eficiência de fertilizantes fosfatados em associações micorrízicas. ENCONTRO NACIONAL DE ROCHA FOSFÁTICA, 5, 1990, São Paulo. **Anais. São Paulo: IBRAFOS**, 1990. p.165-193.
- SIQUEIRA, J.O. Fisiologia e bioquímica de micorrizas vesículo-arbusculares: Alguns aspectos de relação fungo-planta e absorção de fósforo. REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 4, 1991, Mendes. **Anais. Itaguaí: EMBRAPA/CNPBS/UFRRJ**, 1991. p.105-131.

- SIQUEIRA, J. O. Atividade biológica do solo e produção agrícola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24, 1993, Goiânia. **Resumos**, 1.. Goiânia: Sociedade Brasileira Ciência do Solo, Goiânia, 1993a. p.31-32.
- SIQUEIRA, J.O. **Biologia do solo**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1993b. 230p.
- SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: Fundamentos e perspectivas**. Lavras: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988. 236 p.
- SIQUEIRA, J.O. & SAGGIN-Jr., O.J. Importance of mycorrhizae in low-fertility soils. In: DEUTSCH, J.A. (Ed.). **Stress Physiology**. México: CIMMYT, Mexico, 1994. (no prelo).Saggin
- SIQUEIRA, J.O.; HUBBELL, D.H. & MAHMUD, A.W. Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, The Netherlands, 76:113-136, 1984.
- SIQUEIRA, J.O.; SAFIR, G.R. & NAIR, M.G. VA-mycorrhizae and mycorrhiza stimulating isoflavonoid compounds reduce plant herbicide injury. **Plant and Soil**, The Netherlands, 134:233-242, 1991b.
- 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, 10(1):63-121, 1991a.
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A; OLIVEIRA, E. & SCHENCK, N.C. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agro-e ecossistemas naturais do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 24:1499-1506, 1989.
- SIQUEIRA, J.O.; ROCHA, 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**, Heilderberg, 10:65-71, 1990.
- SIQUEIRA, J.O.; SYLVIA, D.M.; GIBSON, J. & HUBBELL, D.H. Spores, germination, and germs tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, 31:965-972, 1985.
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; GUIMARAES, P.T.G. & OLIVEIRA, E. Crescimento de mudas do cafeeiro sob influência da inoculação com fungos micorrízicos e de superfosfato. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 17(1):53-60, 1993.
- SKLADANY, G.J. & METTING-JÚNIOR, F.B. Bioremediation of contaminated soil. In: METTING-JÚNIOR, F.B. (Ed.). **Soil Microbial Ecology; Applications in Agricultural and Environmental Management**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. p.483-513.
- SMITH, J.L. & PAUL, E.A. The significance of soil microbial biomass estimations. In: BOLLAG, J.M. & STOTSKY, G. (Eds.). **Soil Biochemistry**, 6. New York: Marcel Dekker Inc., 6:357-395, 1990.
- SMITH, J.L.; PAPENDICK, R.I.; BEZDICEK, D.F. & LYNCH, J.M. Soil organic matter dynamics and crop residue management. In: METTING-JÚNIOR, F.B. (Ed.). **Soil Microbial Ecology**. New York: Marcel Dekker Inc., 1992. p.65-93.
- SMITH, W.H. Air pollution and forests. Berling: Springer Verlag, 1990. 380p.

- SÖDERSTRÖM, B. The fungal partner in the mycorrhizal symbiosis. In: The Marcus Wallemberg Foundation (Ed.). **Ecophysiology of Mycorrhizae of Forest Trees**. Sweden: The Marcus Wallemberg Foundation, 1991. p.5-26.
- SOUZA, L.A.G.; SILVA, M.F. & MOREIRA, F.W. Capacidade de nodulação de 100 leguminosas da região amazônica. *Acta Amazônica*, Manaus, 1994. (submetido).
- SPOSITO, G. & REGINATO, R.J. **Opportunities in Basic Soil Science Research**. Madison: Soil Science Society of America, 1992. 109 p.
- SRIVASTAVA, S.C. & SINGH, J.S. Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: Effects of alternate land-uses and nutrient flux. *Soil Biology and Biochemistry*, Great Britain, 23(2):117-124, 1991.
- STANIER, R.Y.; ADELBERG, E.A. & INGRAHAN, J.L. **General microbiology**. London: The MacMillan Press, 1977. 871p.
- STEVENSON, F.J. (Ed.) **Nitrogen in agricultural soils**. Madison: American Society of Agronomy, 1982. 940p.
- STEVENSON, F.J. **Cycles of Soil-Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients**. New York: John Wiley & Sons, 1986. 380 p.
- STEWART, J.W.B. & TIESSEN, H. Dynamics of soil organic phosphorus. *Biogeochemistry*, Netherlands, 4:41-60, 1987.
- STOTZKY, G. Activity, ecology, and population dynamics of microorganisms in soil. **Critical Reviews in Microbiology**, Boca Raton, 1:59-137, 1972.
- STOTZKY, G. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses. In: HUANG, P.M. & SCHNITZER, M. (Eds.). **Interaction of Soil Minerals With Natural Organics and Microbes**. Madison: Soil Science Society of America, 1986. p.305-328.
- SUMNER, M.E. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. *Advances in Soil Science*, New York, 14:53-121, 1990.
- SUTHERLAND, J.M. & SPRENT, J.J. Nitrogen fixation by legume trees. In: SUBBA RAO, N.S. & RODRIGUEZ-BARRUECO, C. (Eds.). **Symbioses in Nitrogen Fixing Trees**. Oxford: IBH Publishing Co., 1993.
- SUTTON, J.C. & SHEPPARD, B.R. Aggregation of sand dune soil by endomycorrhizal fungi. *Canadian Journal Botany*, Ottawa, 54:326-333, 1976.
- SYLVESTER-BRADLEY, R.; OLIVEIRA, L.A.; De PODESTÁ-FILHO, J.A. & St. JOHN, J.V. Nodulation of legumes nitrogenase activity of roots and occurrence of nitrogen fixing *Azospirillum* spp in representative soils of central Amazonia. *Agro-ecosystems*, Amsterdam, 6:249-266, 1980.
- SYLVIA, D.M. & WILLIAMS, S.E. Vesicular-arbuscular micorrhizae and environmental stress. In: BETHENFALVAY, G.J. & LINDERMAN, R.G. (Co-eds.). **Micorrhizae in Sustainable Agriculture**. Madison: ASA, 1992. p.101-124.
- TANAKA, Y. & OMURA, S. Agroactive compounds of microbial origin. *Annual Review Microbiology*, Palo Alto, 47:57-87, 1993.
- TAUER, L.W. Economic impact of future biological nitrogen fixation technologies on United States agriculture. *Plant and Soil*, The Netherlands, 119:261-270, 1989.

- THOMAS, R.S.; DAKESSIAN, S.; AMES, R.N.; BROWN, M.S. & BETHLENFALWAY, G.J. Aggregation of a silty clay loam soil by mycorrhizal onion roots. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, 50(6):1494-1499, 1986.
- THORNTON, F.C. & DAVEY, C.B. Response of white clover- *Rhizobium* symbiosis to soil acidity and *Rhizobium* strain. *Agronomy Journal*, Madison, 75:557-560, 1983.
- TIEDJE, J.M.; SEXSTONE, A.J.; PARKIN, T.B.; REVSBECH, N.P. & SHELTON, D.R. Anaerobic processes in soil. *Plant and Soil*, The Netherlands, 76:197-212, 1984.
- TISDALL, J.M. & OADES, J.M. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science*, Edinburgh-England, 33:141-163, 1982.
- TORSVIK, V.; GOKSOYR, J.; DAAE, F. L.; SORHEIM, R.; MICHALSEN, J. & SALTE, K. Use of DNA analysis to determine the diversity of microbial communities. In: RITZ, K.; DIGHTON, J. & GILLER, K. E. (Eds.). *Beyond the biomass; compositional and functional analysis of soil microbial communities*. Chichester: John Wiley & Sons, 1994. p. 39-48.
- TYLER, G. Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: PAUL, E.A. & LADD, J.N. (Eds.). *Soil Biochemistry*, 5. New York: Marcel Dekker Inc., 1981. p.371-414.
- US-EPA. United States Environmental Protection Agency. In: THE CONFERENCE ON TROPICAL FORESTRY RESPONSE OPTIONS TO GLOBAL CLIMATE CHANGE, 1, 1990, Washington. Washington: USA-EPA, 1990, 531p. (Summary report, vol.2,Appendix).
- VANCE, E.K.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. Microbial biomass measurements in forest soils: Determination of kC values and tests of hypotheses to explain the failure of the chloroform fumigation-incubation method in acid soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, 19(6):689-696, 1987a.
- VANCE, E.K.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. Microbial biomass measurements in forest soils: The use of the chloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, 19(6):697-702, 1987b.
- VANCE, E.K.; BROOKES, P.C. & JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, 19(6):703-707, 1987c.
- VANCURA, V. & KUNC, F. *Soil Microbial Associations: control of structures and functions*. Amsterdam: Elsevier, 1988. 405 p.
- VAN DEN BERG, M.E. & SILVA, M.H.L. Medicinal plants of the state of Amazonas. In: SYMPOSIUM ON THE HUMID TROPICS, 1, 1986, Belém. *Proceedings*, 2, Flora and Forest. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. p.127-133.
- VAN DEN BERG, M.E.; SILVA, M.H.L. & SILVA, M.G. Aromatic plants of the Amazonas. SYMPOSIUM ON THE HUMID TROPICS, 1, 1986, Belém. *Proceedings*, 2, Flora and Forest. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1986. p.95-108.
- VARGAS, M. A. & SUHET, A. R. Efeito de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 15:343-347, 1980a.
- 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, 4: 17-21, 1980b.

- VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; SUHET, A. R. & PERES, J. R. R. Duas novas estirpes de rizóbio para a inoculação da soja. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1992a. 3p. (Comunicado Técnico, 62).
- VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; SUHET, A. R. & PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio. In: SIMPÓSIO SOBRE A CULTURA DA SOJA NOS CERRADOS, 1992, Uberaba. **Cultura da soja nos cerrados: Anais**. Piracicaba: POTAFOS, 1992b. p.159-182.
- VASCONCELOS, J.I.P.; ALMEIDA, R.T. de. Fixação biológica de nitrogênio em plantas de interesse econômico do nordeste. Fortaleza: Fundação Cearense de Pesquisa e Cultura, 1979/80. (Relatórios técnicos I, II, III)
- VIDOR, C. Relações entre sistemas de manejo e a microbiota do solo. SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 2, São Paulo. **Anais**. São Paulo: SBM, 1992. p.13-14.
- VIEIRA, R.F. & PERES, J.R.R. Fungos ectomicorrízicos para *Pinus* spp cultivados em solos sob vegetação de cerrado. **Revista Brasileira Ciência Solo**, Campinas, 14:33-39, 1990.
- VILLANI, M.G. & WRIGHT, R.J. Environmental influences on soil macroarthropod behavior in agricultural systems. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, 35:249
- VISSER, S. & PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: Soil microorganisms. **American Journal Alternative Agriculture**, 7(1-2):33-37, 1992.
- VITOUSEK, P.M. The effects of deforestation on air, soil and water. In: BOLIN, B. & COOK, R. B. (Eds.) **The Major Biogeochemical Cycles and Their Interactions**. New York: SCOPE21, 1983. p.223-246.
- VOGT, K.A. PUBLICOVER, D.A. & VOGT, D.J. A critique of the role of ectomycorrhizas in forest ecology. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 35:171-190, 1991.
- WAGENET, R.J. & HUTSON, J.L. Quantifying pesticide behavior in soil. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, 28:295-319, 1990.
- WAID, J.S. Biological and biochemical analysis of soils. **Plant and Soil**, The Netherlands, 76:127-137, 1984.
- WAKSMAN, S.A. **Principles of soil microbiology**. Baltimore: Williams & Wikins, 1927.
- WALLNÖFER, P.R. & ENGELHARDT, G. Microbial degradation of pesticides. Degradation of Pesticides, Desiccation and Defoliation, Ach-Receptors as targets. **Chemistry of Plant Protection**, 2:1-115, 1989.
- WARDLE, D.A. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. **Biology Review**, 67:321-358, 1992.
- WARDLE, D. A. Métodos para quantificar a biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M. & ARAUJO, R. S (Eds.). **Métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. (no prelo).
- WARDLE, D. A. & HUNGRIA, M. A biomassa microbiana do solo e sua importância nos ecossistemas terrestres. In: ARAUJO, R. S. & HUNGRIA, M. **Avanços obtidos nos estudos sobre microrganismos do solo de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA, 1994. (no prelo).

- WATANABE, I. & CHUNG-CHU, L. Improvement of nitrogen-fixing systems and their integration into sustainable rice farming. In: CONGRESS OF SOIL SCIENCE, 14, 1990, Kyoto. **Proceedings**. Kyoto: ASSS, 1990. p.134-139.
- WILLIAMS, S.T. & GRAY, T.R.G. Decomposition of litter on the soil surface. In: DICKINSON, C.H. (Ed.). **Biology of Plant Litter Decomposition**. London: Academic Press, 1974. p.611-632.
- WILSON, J.R. (Ed.). **Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems**. Wallingford, C.A.B. International, 1988. 451 p.
- WOOD, C.W. & EDWARDS, J.H. Agroecosystem management effects on soil carbon and nitrogen. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 39:123-138, 1992.
- WOODWELL, G.M. The effects of global warming. In: LEGGETT, J. (Ed.). **Global Warming: The Green Peace Report**. Oxford: Oxford University Press, 1990. p116-132.
- WORLD RESOURCES 1992-93. **A guide to the Global Environment**. Baltimore: Oxford University Press, 1992/93. p.111-126.
- WU, J.; JOERGENSEN, R.G.; POMMERENING, B.; CHAUSSOD, R. & BROOKES, P.C. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction, an automated procedure. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 22(8):1167-1169, 1990.
- YE, R.W.; FRIES, M.R.; BEZBORODNIKOV, S.G.; AVERILL, B.A. & TIEDJE, J.M. Characterization of the structural gene encoding a copper-containing nitrite reductase and homology of this gene to DNA of other denitrifiers. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 59(1):250-254, 1993.
- YOUNG, J. P. W. Phylogenetic classification of nitrogen-fixing organisms. In: STACEY, G.; BURRIS, R. H.; EVANS, H. J. (Ed.). **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992. p.43-86.
- ZAGAL, E. Measurement of microbial biomass in rewetted air-dried soil by fumigation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, 25(5):553-560, 1993.