

Enquadramento

O solo representa um *habitat* favorável para o crescimento de microrganismos e é habitado por uma vasta gama destes incluindo as bactérias, fungos, algas e protozoários. A estrutura física, a oxigenação, a capacidade de retenção de água e a disponibilidade de nutrientes são determinados pelos minerais constituintes do solo que por sua vez são formados pela erosão das rochas e pelas atividades de degradação metabólica dos microrganismos presentes no solo.

Os solos cultivados apresentam normalmente uma maior população de microrganismos do que um terreno inculto, e os solos ricos em matéria orgânica contêm uma quantidade maior de microrganismos do que solos arenosos e erodidos. Os micróbios do solo constituem um papel importante na manutenção da fertilidade do solo e reciclagem de nutrientes presentes na biosfera e também de produtos de fontes industriais como enzimas, antibióticos, vitaminas, hormonas, ácidos orgânicos etc.

Figura 1 - Nódulos de *Rhizobium spp.* em raízes de Feijão.



Os microrganismos do solo utilizam e degradam a matéria orgânica das plantas e animais que são depositados no solo e aproveitam os produtos da degradação para sintetizar uma série de compostos que formam o húmus, uma substância amorfa negra composta por resíduos de matéria orgânica. O húmus melhora a textura e a estrutura do solo, contribui para a sua capacidade de tamponamento e de aumentar a capacidade de retenção de água do solo. As moléculas do húmus estão carregadas negativamente sendo que se ligam aos iões carregados positivamente (catiões) dos nutrientes das plantas, formando uma importante componente na capacidade de trocas catiónicas. É também reconhecido o seu papel no que toca à prevenção de doenças em plantas.

Alguns micróbios do solo segregam polissacarídeos e glicoproteínas, que funcionam como uma cola que mantém os minerais juntos, formando a base para a estrutura do solo.

A decomposição da matéria orgânica no solo tem duas funções para os microrganismos: fornece energia para o crescimento e carbono para a formação de novas células. A matéria orgânica do solo (MOS) é composta por uma matéria “viva” (microrganismos) e matéria “morta” (resíduos frescos) e frações de húmus. O húmus, é a fração de matéria orgânica de longo-prazo (milhares de anos) e resistente à decomposição. A matéria orgânica do solo apresenta duas componentes: a ativa (35%) e a passiva (65%). A ativa é composta por material de plantas e animais vivos e mortos que fornece alimento para os microrganismos e é composta por açúcares digeridos e proteínas. A matéria orgânica passiva é resistente à decomposição pelos microrganismos e é rica em lenhina.

Os microrganismos necessitam de suplementos de matéria orgânica ativa para sobreviverem no solo. Os solos de longo-prazo não cultivados apresentam significativamente maior número de micróbios, mais carbono ativo, mais matéria orgânica e mais carbono armazenado do que solos arados. A maioria dos micróbios do solo vive sob condições de alimento diminuto e normalmente tendem a permanecer em estado de dormência em solos arados.

Os restos de plantas e os nutrientes destas servem de alimento para os micróbios do solo. A matéria orgânica do solo é basicamente constituída por todas as substâncias orgânicas (qualquer coisa com carbono) do solo, tanto matéria viva como morta, isto inclui plantas, algas verdes e azuis, microrganismos (bactérias, fungos, protozoários, nemátodes...) e matéria orgânica em decomposição de plantas, animais e microrganismos.

A agricultura depende fortemente da capacidade de microrganismos (normalmente bactérias) de converterem azoto atmosférico (gás N_2) em amónia (NH_3). Este processo é denominado por fixação do azoto. A fixação biológica do azoto constitui cerca de 60% da fixação do azoto terrestre. Algumas destas bactérias vivem livremente no solo, enquanto outras vivem em associação com raízes de plantas (formando nódulos nas raízes), como é o caso das bactérias do género *Rhizobium* presentes nas leguminosas, como por exemplo no feijão e na soja ou até mesmo nas plantas invasoras acácias. Nesta simbiose, as bactérias utilizam os produtos da fotossíntese das plantas para obtenção de energia e as plantas obtêm o azoto essencial ao seu crescimento já que o utiliza da síntese de proteínas.

Nesta experiência os alunos terão oportunidade de cultivar em laboratório microrganismos que estão presentes no solo de amostras recolhidas em campo. Será possível observar o que é imperceptível a olho nu, mas que representam um papel fundamental nos ecossistemas do solo.

Objetivos:

- Descrever a importância dos microrganismos do solo;
- Elaborar meios de cultura de microrganismos do solo;
- Distinguir colônias de fungos e colônias de bactérias.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Material:

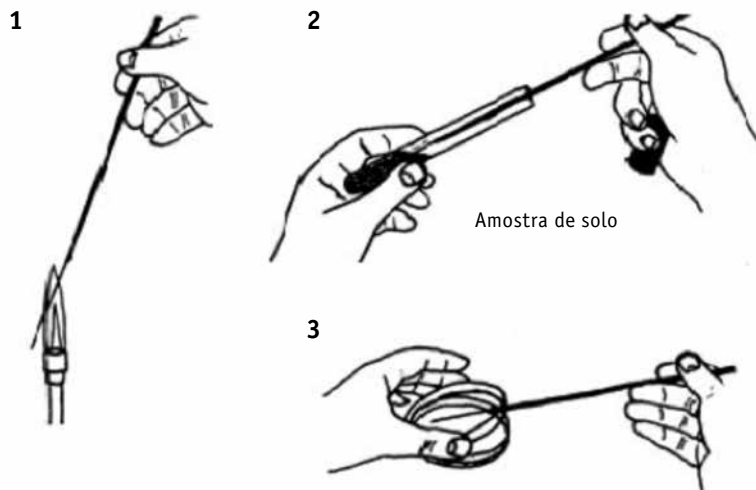
Amostra de solo

- Agar-agar
- 2 caixas de Petri
- 2 tubos de ensaio
- 1 marcador permanente
- Bico de Bunsen
- Ança
- Fita cola ou fita adesiva

Procedimento:

1. Dividir a amostra de solo recolhida em campo em duas. Uma parte será esterilizada (ver próximo passo) e outra mantida tal como foi recolhida.
2. Aquecer uma parte da amostra de solo a 120 °C durante 90min de forma a ser esterilizada;
3. Pegar em dois tubos de ensaio, cada um com 10cm³ de agar-agar contendo os nutrientes da qual os microrganismos se vão alimentar. Acender o bico de Bunsen e ajustar a chama para que fique com tonalidade azul (zona da chama mais quente onde o gás é completamente queimado);
4. Remover a tampa de algodão de um tubo de ensaio, passar a parte superior do tubo duas ou três vezes pela chama do bico de Bunsen e entornar o agar-agar líquido numa placa de Petri (levantar cuidadosamente a tampa da caixa). Substituir a tampa e repetir o mesmo procedimento para a segunda caixa de Petri com o outro tubo de ensaio contendo agar líquida. O agar deve ficar sólido em cerca de cinco minutos;
5. Usar um marcador para escrever “Teste” na tampa de uma placa de Petri e “Controlo” na outra. Adicionar também a data e nome do grupo/turma em cada caixa;
6. NÃO CONTINUAR A EXPERIÊNCIA ATÉ O AGAR SECAR. Tocar cuidadosamente nas placas para certificar que está seca;
7. Esterilizar a ança segurando quase verticalmente na chama do bico de Bunsen até ficar avermelhada;
8. Retirar uma pequena porção da amostra de solo não esterilizado com a ança e levantar a tampa da caixa “Teste”. Dispersar o solo pelo agar para que as partículas fiquem bem distribuídas (Figura 2);

Figura 2 - Representação esquemática da transferência da amostra de solo para a caixa de Petri.



9. Retirar uma pequena porção da amostra de solo esterilizado previamente utilizando a ança novamente esterilizada pela chama do bico de Bunsen.
10. Transferir a pequena porção de solo esterilizado para a placa de Petri “Controlo” como anteriormente;
11. Fechar as placas de Petri com fita-cola ou fita adesiva para assegurar a posterior segurança na fase de examinação do conteúdo;
12. Incubar a 30 °C durante dois dias ou deixar num armário à temperatura ambiente durante uma semana;
13. Depois do período de incubação, examinar as placas **NÃO REMOVENDO AS TAMPAS**.

Notas:

- As colónias de bactérias são na sua maioria pequenas, circulares e parecem “húmidas” ou brilham. As colónias de fungos são na maior parte maiores, de forma irregular e sem brilho;
- Os microrganismos que crescem dentro do agar normalmente são anaeróbicos. Aqueles que crescem na superfície são mais prováveis serem aeróbicos;
- Quando se observa uma colónia de bactérias isso representa milhões de indivíduos;
- Quando se observa uma colónia de fungos provavelmente cresceu apenas a partir de um esporo;

QUESTÕES:

1. Indicar alguns exemplos da importância dos microrganismos do solo para este ecossistema.
2. O que aconteceu à placa de Petri “Controlo”? Apresenta ou não colónias? Porquê?
3. Quando se olha para um solo a olho nu não é possível observar-se microrganismos. Porque é possível observa-los nas caixas de Petri?
4. Quantas colónias de fungos é possível observar? E de bactérias?
5. Que diferenças apresentam as colónias de fungos em relação às colónias de bactérias?

Sugestão adicional: efetuar o mesmo protocolo experimental com amostras de solo de diferentes camadas (horizontes); ver protocolo “Horizontes do Solo”. Por exemplo, comparar folhada superior, húmus superficial e mistura de húmus com fração mineral.