

Papel dos microrganismos do solo na recuperação de solos degradados

Os microrganismos têm um papel fundamental na manutenção dos solos, realizando processos-chave que mantêm a estrutura e fertilidade do solo, onde se incluem, entre outros, a formação de associações com as raízes das plantas, a atuação como antagonistas de patogénios e a influência na solubilização dos minerais.

Isabel Videira e Castro e Paula Fareleira . INIAV, I.P.



Importância dos microrganismos do solo

O solo é considerado o maior reservatório de microrganismos do planeta. Um hectare de solo arável poderá conter até 4 toneladas de microrganismos (onde estão incluídos, principalmente, as bactérias e os fungos). A maior atividade destes microrganismos é junto das raízes das plantas, onde formam diversas interações que condicionam a sua atividade, desenvolvendo-se assim um ambiente único e dinâmico conhecido como rizosfera. É também aqui, na rizosfera, que a biodiversidade dos microrganismos do solo é mais elevada, encontrando-se microrganismos capazes de promover o crescimento de plantas, decompositores de matéria orgânica, fungos e bactérias antagonistas de patogénios, endófitos, fixadores simbióticos ou não de azoto. Por isso, os microrganismos têm um papel fundamental na manutenção dos solos, realizando processos-chave que mantêm a estrutura e fertilidade do solo.

Algumas práticas agrícolas têm efeitos adversos na biodiversidade do solo. Assim, por exemplo, os sistemas de mobilização do solo, dependendo da profundidade e frequência com que o solo é mobilizado, poderão levar a uma diminuição drástica da biodiversidade. Porém, sistemas de mobilização mínima são mais compatíveis com a atividade biológica do solo. Também a utilização de pesticidas e inseticidas diminui a atividade biológica do solo, tendo, aqui, um papel importante o controlo biológico, baseado na utilização de organismos, com o objetivo de reduzir o inóculo de uma espécie patogénica, retardar ou inibir a infecção, sem eliminação dos organismos benéficos e essenciais ao desenvolvimento de uma agricultura sustentável, ou seja, sem diminuição da biodiversidade.

A ecologia dos microrganismos do solo e o estudo das suas interações com plantas,

a sua participação na funcionalidade dos ecossistemas, e a sua dinâmica e produtividade são áreas de grande importância a nível da sustentabilidade dos solos. Assim, por exemplo, no ecossistema montado, o sobcoberto é um fator determinante para a sua sustentabilidade e rentabilidade, onde as pastagens naturais ou introduzidas, à base de leguminosas, mas também com gramíneas, podem desempenhar um papel predominante, aumentando a fertilidade do solo.

1. Associações simbióticas com leguminosas

A fixação biológica do azoto conseguida através da simbiose entre leguminosas e bactérias dos nódulos radiculares, coletivamente referidas como *Rhizobium sp.* (rizóbios), é a contribuição mais importante e significativa que as bactérias do solo podem ter nas práticas agrícolas e silvícolas.



Figura 1 – Isolamento de bactérias dos nódulos radiculares e respetivo crescimento em placas com meios de cultura apropriados

Esta simbiose tem o potencial de libertar as plantas leguminosas hospedeiras da dependência em fertilizantes azotados, bem como aumentar a fertilidade do solo. A completa realização deste potencial depende em maximizar a contribuição de cada simbionte (bactéria e leguminosa), atendendo à especificidade da associação e fornecendo condições para a nodulação e crescimento da planta.

De um modo geral, podemos dizer que a fixação biológica do azoto pode introduzir gratuitamente no solo quantidades apreciáveis de azoto atmosférico numa forma am-

bientalmente não poluente. Daí o papel importante que estas bactérias poderão ter na sustentabilidade/recuperação de solos com baixa fertilidade, através da instalação de pastagens (biodiversas) com leguminosas utilizando rizóbios autóctones como biofertilizantes. É de referir que, para o caso das leguminosas, Portugal é provavelmente um dos países da Europa com uma das maiores diversidades a nível vegetal e uma das principais áreas de distribuição de leguminosas no Mundo, à qual corresponde uma grande diversidade de estirpes de bactérias fixadoras de azoto, que contribuem para a sustentabilidade dos solos. Por outro lado, a fixação biológica do azoto poderá dar um grande contributo também no desenvolvimento de inoculantes para leguminosas, o que, aliás, deveria claramente ser maximizado, ajudando assim a redução da utilização de fertilizantes químicos (azotados). Sob o ponto de vista dum agricultura sustentável e amiga do ambiente, os biofertilizantes podem também ser de grande utilidade na recuperação de terrenos marginais para o seu aproveitamento agrícola e florestal (Castro e Ferreira, 2011).

Nesse sentido, a colheita de leguminosas autóctones, de vários pontos do país e em diferentes solos, e o consequente isolamento de bactérias dos nódulos radiculares tem sido efetuada (Figura 1).

As estirpes de rizóbios isoladas têm sido testadas em diversas leguminosas em ensaios em ambiente controlado de luz, temperatura e humidade. (Figura 2) (Soares et al., 2016) e também em ensaios de estufa e de campo (Figura 3). Comparando as plantas leguminosas inoculadas com as bactérias rizóbios e as plantas não inoculadas, verificou-se um desenvolvimento muito maior nas plantas inoculadas, o que indica que as bactérias utilizadas são eficientes na fixação de azoto.

A abundância da população natural de rizó-

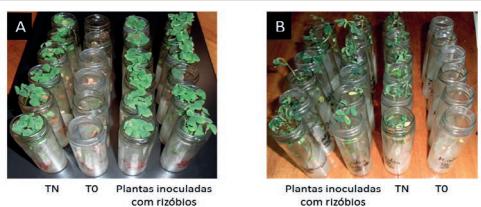


Figura 2 – Ensaios com plantas de trevo subterrâneo (A) e de luzernas anuais (*Medicago polymorpha*) (B) inoculadas com diferentes estípulas autóctones de rizóbios. Como controlos utilizaram-se plantas às quais se adicionou azoto (TN) e plantas sem adição de azoto nem de bactérias (TO)



Figura 3 – Plantas de trevo subterrâneo inoculadas com várias estípulas autóctones de rizóbios previamente selecionadas (inoculante INIAV) com e sem adubação PK (fósforo e potássio) provenientes de um ensaio de campo na zona do Alentejo. Como controlos utilizaram-se plantas (PK) às quais se adicionou fósforo e potássio e plantas (TO) sem adubação nem inoculação de rizóbios

bios associados a uma determinada espécie de leguminosa é sempre um parâmetro a ser avaliado e relacionado com a fertilidade do solo. Assim, por exemplo, em parcelas com vários graus de desfolha (Bom, Médio e Mau), na zona de montado da Serra de Grândola (Figura 4), verificou-se que a abundância da população de rizóbios era muito menor na parcela com índice de desfolha maior (Figura 5) (Fernandez et al., 2013). Na parcela classificada em "Bom" estado, os valores próximos de 10^4 bactérias/g de solo indicam que a fixação biológica do azoto pelas simbiose está a contribuir para a fertilidade dos solos, ao contrário do que se verifica na parcela em "Mau" estado, onde os valores são muito baixos.

Igualmente, a avaliação da capacidade de fixação de azoto dessa mesma população

natural de rizóbios, nas várias parcelas, é também um parâmetro essencial para se poder aferir sobre o estado da fertilidade dum solo (Figura 6). Para avaliação deste parâmetro, foram efetuados ensaios com plantas de trevo subterrâneo em ambiente controlado e inoculadas com as diferentes amostras de solo colhidas nas várias parcelas. Nas parcelas em "Mau" estado, os valores obtidos de peso seco das plantas estão abaixo dos controlos To (plantas sem adição de azoto, nem de bactérias), indicativo duma população não fixadora de azoto, isto é, ineficaz. Para as parcelas com índices de desfolha médios, os valores são superiores ao controlo To, mas ainda inferiores ao TN (plantas com adição de azoto), indicativo duma população medianamente fixadora de azoto.

ticas ou de "vida livre". Um dos mais conhecidos é Azospirillum, uma bactéria fixadora de azoto presente na rizosfera de gramíneas em solos tropicais e cuja caracterização, na década de 1970, mostrou importantes efeitos ao nível do desenvolvimento de plantas em situações de limitação de azoto. Recentemente foram isoladas várias bactérias autóctones associadas a azevém anual em solos com pastagem natural, em zonas de montado, tendo algumas delas induzido aumentos significativos nas raízes de plantas cultivadas laboratorialmente em meio sem azoto (Castanheira et al., 2014).

No entanto, a fixação de azoto não é a única atividade importante destas bactérias do solo. Muitas delas podem desempenhar outras funções relevantes para as plantas, como a disponibilização de fósforo ou ferro imobilizados no solo, a produção de moléculas estimulantes do crescimento, ou a proteção contra situações de stress ou agentes fitopatogénicos. Devido às suas características e aos efeitos benéficos que podem exercer, estas bactérias são coletivamente designadas por promotoras do crescimento de plantas.

A seguir ao azoto, o fósforo é o elemento mais limitante para o crescimento das plantas em muitos solos. Isto acontece porque a maior parte do fósforo existente no solo encontra-se imobilizada em formas insolúveis que não estão disponíveis para as plantas. Não existindo fósforo disponível e no sentido de suprir as necessidades das plantas para este nutriente essencial, os agricultores recorrem à aplicação de fertilizantes fosfatados. No entanto, para além de provenientes de recursos naturais limitados, estes fertilizantes são, muitas vezes, aplicados em excesso e com pouca eficiência de utilização pelas plantas, contribuindo para problemas ambientais graves. Algumas bactérias do solo são capazes de mobilizar o fósforo indisponível e torná-lo acessível às plantas, reduzindo as necessidades de fertilização fosfatada. O mecanismo de solubilização mais comum baseia-se na produção de ácidos orgânicos, com acidificação do meio envolvente e libertação de ortofosfato das reservas de fósforo do solo. Para além de disponibilizar o fósforo naturalmente presente no solo, este processo pode, também, ajudar a melhorar a eficiência de utilização do fósforo adicionado por fertilização. Foram isoladas várias bactérias solubilizadoras de fosfato associadas a azevém anual em solos de montado. Uma destas bactérias, do género *Pseudomonas*, foi testada, num ensaio em vasos, usando um solo deficiente em fós-

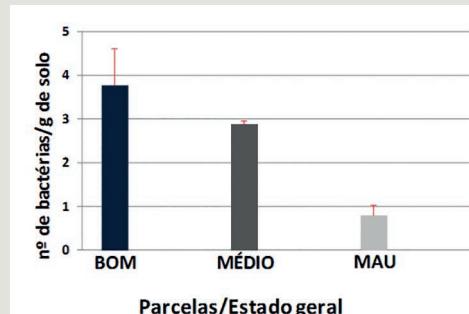


Figura 5 – Abundância de bactérias fixadoras de azoto (rizóbios) associadas a leguminosas em montados de sobreiro da Serra de Grândola, selecionados com base no índice de desfolha

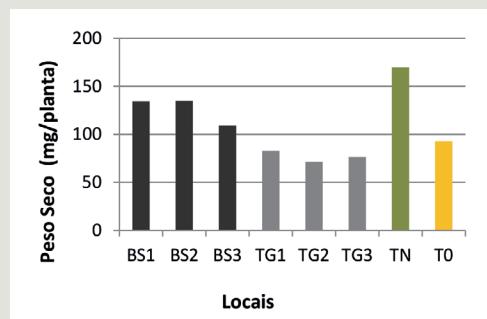


Figura 6 – Avaliação da capacidade de fixação de azoto das bactérias (rizóbios) nas várias parcelas com maiores índices de desfolha, consideradas em "Mau" estado (a cinzento) e parcelas cujo estado geral foi considerado "Médio" (a preto)



Figura 4 – Vista geral duma parcela numa zona de montado na Serra de Grândola em "Mau" estado

2. Associações não simbióticas com gramíneas

Outras plantas, como as gramíneas, podem obter azoto através de outras associações, não simbióticas, com microrganismos fixadores de azoto. Nas zonas de montado, as pastagens, além de leguminosas, contêm também gramíneas e, por isso, estas associações podem também contribuir para suprir uma parte das necessidades destas plantas em azoto. Existem vários géneros de bactérias fixadoras de azoto não simbó-

foro. Comparando o desenvolvimento de plantas de azevém inoculadas e não inoculadas, verificou-se que a introdução da bactéria solubilizadora de fosfato resultava num aumento considerável da biomassa radicular (Figura 7).

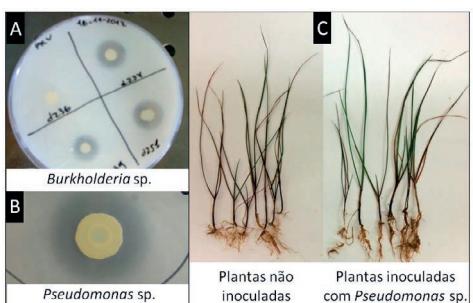


Figura 7 – Bactérias solubilizadoras de fosfato isoladas de azevém anual. (A e B) Testes em placa mostrando halos de solubilização de fosfato tricálcico insolúvel por *Burkholderia* sp. e *Pseudomonas* sp. (C) Efeitos da inoculação de *Pseudomonas* sp. em plantas de azevém anual crescidas num solo deficiente em fósforo

Para além da disponibilização de nutrientes, as bactérias do solo podem estimular diretamente as plantas através da produção de substâncias – fitohormonas – que interferem no seu crescimento e desenvolvimento. A fitohormona de origem bacteriana mais comum é a auxina. A sua produção promove a formação de raízes secundárias e aumenta o tamanho e densidade dos pelos radiculares, aumentando a capacidade exploratória das raízes e beneficiando a nutrição da planta. Estes efeitos foram observados, por exemplo, com uma estirpe de *Pseudomonas* sp. isolada de azevém anual e inoculada na planta-modelo *Arabidopsis thaliana* (Figura 8). Quando inoculada em azevém anual, a mesma estirpe não só estimulou o crescimento das raízes, incrementando a sua biomassa, como também aumentou os teores foliares em pigmentos fotossintéticos e ácidos gordos polinsaturados de elevado valor nutricional (Castanheira et al., 2017).



Figura 8 – Efeitos da inoculação de *Pseudomonas* sp. em *Arabidopsis thaliana*, mostrando o aumento da ramificação das raízes e do tamanho e densidade dos pelos radiculares

3. Biocontrolo

Os microrganismos do solo, nomeadamente algumas bactérias da rizosfera, onde estão incluídas as fixadoras de azoto, podem estar implicados na supressão de patógenos das plantas e na degradação de contaminantes, e têm, por isso, também um papel importante na produtividade agrícola. Daí a importância de, na definição de uma estratégia de luta contra determinados agentes fitopatogénicos, como é, por exemplo, o caso de *Phytophthora cinnamomi* ou de *Diplodia corticola* (sin. *Botryosphaeria*), que são os principais patógenos responsáveis pelas doenças dos sobreiros/azinheiras, se poder vir a englobar a utilização de bactérias do solo com atividade antagonista como agentes de biocontrolo (Figura 9).



Figura 9 – Ensaios “in vitro” para avaliação da atividade antagonista de bactérias isoladas dos nódulos radiculares de leguminosas em relação a *Phytophthora cinnamomi* (A) e a *Diplodia corticola* (B)

Considerações finais

Nas últimas décadas tem sido atribuída cada vez maior importância aos processos biológicos que envolvem os microrganismos do solo, permitindo, assim, a entrada de nutrientes como o N e o melhor aproveitamento de fontes de P, levando, por um lado, à redução das necessidades de fertilizantes químicos nas culturas e ao recurso a biofertilizantes e, por outro, à diminuição das perdas de nutrientes, por lixiviação ou volatilização, entre outros. Um melhor conhecimento dos benefícios que as bactérias fixadoras de azoto e outras bactérias promotoras do crescimento de plantas podem ter em vários hospedeiros, contribuirá para que esta área, pouco desenvolvida no nosso País, se torne potencialmente importante em termos da sustentabilidade dos sistemas agroflorestais.

Portanto, e para concluir, pode-se afirmar que os microrganismos do solo têm vindo a assumir um papel de destaque na sustentabilidade dos sistemas agro-silvo-pastoris, e preservar ou incrementar a atividade de microrganismos benéficos para a agricultura deverá ser uma meta importante a atingir e

também uma medida facilitadora da adaptação do ecossistema às alterações climáticas. Esta temática enquadra-se plenamente no atual quadro de expansão da economia global, onde o novo desafio para a agricultura é o da sustentabilidade da produção, o que exige tecnologias e práticas de gestão que assegurem um ambiente saudável e eficiência económica. ☐

Agradecimentos

Os resultados referidos fazem parte dos projetos “Experimentação e Divulgação de Técnicas de Gestão para a Recuperação do Montado de Sobreiro na Região de Grândola” (financiado pelo Fundo Florestal Permanente) e “Novos Inoculantes Microbianos para Pastagens em Sistemas Agro-Silvo-Pastoris” (PRODER 54971). As culturas de *Phytophthora cinnamomi* e de *Diplodia corticola* foram cedidas por Helena Machado e Helena Bragança, da UEIS-SAFSV, INIAF.

Bibliografia

- Castanheira, N.; Dourado, A.C.; Alves, P.I.; Cortés-Pallero, A.M.; Delgado-Rodríguez, A.I.; Prazeres, A.; Borges, N.; Sánchez, C.; Barreto Crespo, M.T.; Fareleira, P. 2014. Annual ryegrass-associated bacteria with potential for plant growth promotion. *Microbiological Research* 169: 768-779.
- Castanheira, N.L.; Dourado, A.C.; Pais, I.; Semedo, J.; Scotti-Campos, P.; Borges, N.; Carvalho, G.; Barreto Crespo, M.T.; Fareleira, P. 2017. Colonization and beneficial effects on annual ryegrass by mixed inoculation with plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research* 198: 47-55.
- Castro, I.V.; Ferreira, E.M. 2011. Inoculantes microbianos para leguminosas. In: Coelho, P.S. e Reis, P. (Eds.) – Agrorural. Contributos Científicos. Portugal, INRB, I.P. e Imprensa Nacional – Casa da Moeda, SA, 298-307.
- Fernandez, C.; Soares, R.; Barrento, M.J.; Machado, H.; Gomes, A.A.; Castro, I.V. 2013. Contribution of root nodule bacteria for the sustainability of “montado” (cork oak) ecosystem. In: Extended Abstract Book, II IBEM-PA Conference Microorganisms for future agriculture, 59-60, Sevilla, Spain.
- Soares, R.; Arcos, E.; Ferreira, E.; Castro, I.V. 2016. Microbial inoculants with autochthonous bacteria for biodiverse legume pastures in Portuguese agro-forestry ecosystems. In: F. González-Andrés and E. James (Eds.) – Biological Nitrogen Fixation and Beneficial Plant-Microbe Interaction. Cap.15, 171-182.