

CAPÍTULO XII

RESPIRAÇÃO MICROBIANA

Jair Alves Dionísio
Ida Chapaval Pimentel
Diana Signor

A respiração microbiana (absorção de O_2 e/ou liberação de CO_2), é resultante da atividade exclusiva das bactérias, fungos, algas e protozoários do solo e incluem as trocas gasosas provenientes dos metabolismos aeróbio e anaeróbio (ANDERSON, 1982). O procedimento é realizado em laboratório, sob temperatura e umidade controladas. Já o termo respiração do solo resulta de toda atividade metabólica dos organismos do solo (micro e macro-organismos e raízes de plantas). O método de estudo utiliza a inserção de câmaras (respirômetros) na superfície do solo para quantificar a liberação de CO_2 .

A respiração microbiana corresponde à oxidação da matéria orgânica por organismos do solo que, portanto, utilizam o O_2 como acceptor final de elétrons, até CO_2 (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Assim, essa microbiota é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, pela ciclagem de nutrientes e pelo fluxo de energia no interior do solo, exercendo influência tanto na transformação da matéria orgânica, quanto na estocagem do carbono e nutrientes minerais, com consequente liberação de CO_2 para a atmosfera (JENKINSON; LADD, 1981).

Para se estimar as respirações – microbiana ou do solo – diversos métodos podem ser utilizados, baseando-se no consumo de O_2 ou na liberação de CO_2 . Para o consumo de O_2 , utiliza-se a cromatografia gasosa ou o eletrorespirômetro. Para a liberação de CO_2 , utiliza-se a titulação (quando este gás é capturado por NaOH ou KOH), condutividade elétrica, cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho (IRGA) ou por ^{14}C , neste caso quando se deseja monitorar compostos orgânicos específicos.

A vantagem de se medir o CO_2 ao invés do O_2 está no fato deste refletir a atividade de micro-organismos aeróbios e anaeróbios (RODRIGUES; DE-POLLI, 2000), pois no solo, em ambiente aeróbio, pode haver sítios de anaerobiose.

Segundo Grisi (1995), o estudo da respiração do solo ou da respiração microbiana pode ser realizado em dois sistemas:

- 1) Estático: com a utilização de câmaras de incubação, sem aeração; e,
- 2) Dinâmico: com aeração constante em câmara de medição.

A respiração microbiana do solo – um dos mais antigos parâmetros para quantificar a atividade microbiana (ALEF, 1995) – também é conhecida como respiração basal (RBS), ou seja, aquela atividade microbiana que o solo apresenta em função do seu próprio teor de matéria orgânica. Além disso, é possível avaliar, no solo, a respiração induzida (RIS) por um substrato, na qual se adiciona uma fonte específica de substrato orgânico, como a glicose, por exemplo.

A atividade dos micro-organismos no solo pode ser estimada em termos metabólicos, por indicadores como CO_2 evoluído, O_2 absorvido, degradação de substratos, transformações de nutrientes e formação de metabólitos (WAID, 1984). De acordo com Moreira e Siqueira (2006), a respiração microbiana do solo está diretamente relacionada à decomposição da matéria orgânica no solo e à mineralização do húmus, sendo capaz de fornecer uma indicação aproximada do metabolismo total do solo. Além disso, é conhecida como a forma mais precisa na determinação da atividade microbiana, refletindo diretamente a atividade de micro-organismos heterotróficos do solo, os quais são importantes no processo de ciclagem de nutrientes, o que afeta diretamente a fertilidade e a qualidade do ambiente (ANDRÉA; PETTINELLI, 2000).

A velocidade de decomposição do resíduo orgânico no solo é determinada principalmente pelas características intrínsecas desse material, tais como: relação C/N; teor de carboidrato e lignina; grau de agregação; características do solo (pH, teor de nutriente e umidade, etc.) e do ambiente (temperatura e precipitação), ambos diretamente proporcionais à atividade microbiana no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os micro-organismos são os principais transformadores da matéria orgânica, realizam a decomposição de resíduos orgânicos e utilizam os elementos carbono e nitrogênio na proporção de 30/1, eliminando dois terços do carbono para a atmosfera na forma de CO_2 e imobilizando, no seu protoplasma, um terço com relação C/N 10/1 (SIQUEIRA, 1993).

Quando a relação C/N do material orgânico em decomposição for baixa (inferior a 30/1), como em leguminosas até o período da floração, ocorre rápida decomposição com liberação do NH_4^+ . Em caso de materiais com relação C/N alta (superior

a 30/1), poderá ocorrer imobilização temporária do N mineral pelos micro-organismos do solo, o que pode induzir a uma deficiência temporária de N para as plantas.

A estimativa das respirações, microbiana ou do solo, por meio da liberação de CO₂, é uma das mais eficientes ferramentas para se avaliar a recuperação de áreas degradadas, pelo baixo custo, eficiência e indicar mudanças rápidas (PASSIANTO et al., 2001).

Catellan e Vidor (1990b), trabalhando com diferentes sistemas de culturas, entre eles siratro, campo nativo e solo descoberto, encontraram os seguintes valores de respiração microbiana, respectivamente: 92,3; 207,0 e 57,8 mg C-CO₂ kg⁻¹ de solo, média de 12 coletas, na camada de 0 a 5 cm, durante dez dias de incubação. Os resultados permitem concluir que os sistemas com cobertura vegetal e efeito rizosférico tendem a apresentar maiores valores de respiração basal, se comparados com solos sem cobertura vegetal.

PROTOCOLO X

RESPIRAÇÃO BASAL DO SOLO EM SISTEMA ESTÁTICO, MÉTODO DE ALEF (1995)

1. Material

- a) Solo úmido coletado da camada superficial, obtido conforme o Capítulo II (p. 14);
- b) Vidraria: bureta automática de 10,0 mL, frascos de vidro escuros de 1,0 L com tampa, tubos de ensaio de 15,0 mL e Erlenmeyer de 125,0 mL;
- c) Equipamentos: estufa de incubação, balança de precisão centesimal, geladeira e agitador magnético;
- d) Soluções: fenolftaleína (0,1 %), HCl 0,5 N, BaCl₂ (50 %) e NaOH 0,5N;
- e) Outros: micropipetas com ponteiros de 1,0 mL e 10,0 mL, trado calorador, peneiras número 10 (abertura de 2,00 mm) e número 20 (abertura de 0,85 mm), luvas de proteção (nitrílica descartável), pera insufladora, balde plástico de 5,0 L ou 8,0 L, espátula, substratos orgânicos: aveia, milho, soja, alfafa, húmus, serragem, celulose, esterco bovino; e,
- f) Alternativos: pipetas de 1,0 mL e 10,0 mL.

2. Metodologia

2.1. Respiração basal do solo (RBS)

- a) Pesar 10,00 g de solo úmido para determinar a massa de solo seco (item 3);
- b) Determinar a capacidade de retenção de água (CRA) e corrigir a umidade para 60,0 % da CRA, com água destilada (Anexo 3);
- c) Pesar 100,00 g de solo úmido, previamente tamizado, em peneira número 10 (abertura de 2,00 mm), em triplicata, e transferir para um frasco de vidro com tampa hermética;
- d) Colocar dentro do frasco de vidro um tubo de ensaio contendo 15,0 mL de NaOH 0,5 N padronizado (Anexos 1 e 4) para capturar o CO₂ produzido e outro tubo de ensaio contendo 10,0 mL de água destilada para manter a umidade do ambiente;
- e) Para cada dez frascos de vidro a serem incubados, realizar uma prova em branco, que corresponde a um frasco contendo apenas um tubo de ensaio com 15 mL de NaOH 0,5 N padronizado (Anexos 1 e 4) e outro contendo 10,0 mL de água destilada;

- f) Fechar hermeticamente os frascos de vidro e incubá-los em estufa a 25 °C por uma semana (168 h);
- g) Após o período de incubação, retirar dos frascos de vidro os tubos de ensaio contendo NaOH e transferir a solução para um Erlenmeyer de 125,0 mL, adicionar 1,0 mL de BaCl₂ (50 %) (Anexo 1) e duas gotas de fenolftaleína (Anexo 1); e,
- h) Após a padronização (Anexo 4), titular o excesso de NaOH com HCl 0,5 N (Anexo 1).

2.2. Respiração induzida pelo substrato (RIS)

Para determinar a RIS, o procedimento é o mesmo utilizado para a RBS, porém, adicionam-se ao solo, individualmente, substratos orgânicos em proporções conhecidas e homogeneiza-se com uma espátula. Os substratos são previamente secados em estufa a 60 °C, moídos e tamisados em peneira número 20 (abertura de 0,85 mm).

2.3. Sugestões de tratamentos

- a) Solo Testemunha (ST) = RB;
- b) Solo Testemunha + 1,0 % de palha de aveia (ST + PAV) = RIS;
- c) Solo Testemunha + 1,0 % de palha de milho (ST + PMI) = RIS;
- d) Solo Testemunha + 1,0 % de palha de alfafa (ST + PAL) = RIS;
- e) Solo Testemunha + 1,0 % de palha de soja (ST + PSO) = RIS;
- f) Solo Testemunha + 1,0 % de pó de serragem (ST + PSE) = RIS;
- g) Solo Testemunha + 1,0 % de celulose (ST + CE) = RIS;
- h) Solo Testemunha + 1,0 % de esterco bovino (ST + EB) = RIS; e,
- i) Solo Testemunha + 1,0 % de húmus (ST + HU) = RIS.

3. Cálculo

1. Calcular a respiração basal do solo (RBS) de acordo com Stotzky (1965):

$$\text{RBS ou RIS} \rightarrow \text{C-CO}_2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1} = \{[(b-a) \times N \times E \times 1.000]/g^*\}/h$$

*Obtido após a secagem do solo úmido em estufa (105 °C) até massa constante.

Onde:

b: Volume de HCl gasto na prova em branco;

a: Volume de HCl gasto na amostra;

E: Equivalente do carbono;

N: Normalidade do HCl;

g: massa de solo seco; e,

h: horas de incubação.

4. Resultados

Tabela 13. Respiração microbiana do solo ($\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) acumulada em função da adição de resíduos orgânicos.

Tratamento	Repetições				Média
	I	II	III	IV	
1. Solo testemunha (ST)					
2. ST + palha de aveia					
3. ST + palha de milho					
4. ST + palha de alfafa					
5. ST + palha de soja					
6. ST + pó de serragem					
7. ST + celulose					
8. ST + esterco bovino					
9. ST + húmus de minhoca					