

DIVERSIDADE MICROBIANA
COMO INDICADOR DE QUALIDADE DO SOLO¹

*Jerri Édson Zilli*²
*Norma Gouvêa Rumjanek*³
*Gustavo Ribeiro Xavier*⁴
*Heitor Luiz da Costa Coutinho*⁵
*Maria Cristina Prata Neves*⁶

RESUMO

Qualidade do solo é um conceito amplo que se refere ao equilíbrio entre os condicionantes químicos, físicos e biológicos do solo. Para a avaliação da qualidade de um solo, tem sido postulada a necessidade de identificação de parâmetros indicativos do seu estado de conservação e/ou degradação. A diversidade microbiana, em virtude de os microrganismos estarem na base da cadeia trófica e intrinsecamente associados aos diversos processos ecológicos do solo, tem figurado como um importante indicador da qualidade do solo. Essa diversidade costuma ser apresentada em forma de índices; isso porque existem dificuldades de sua avaliação e compreensão dentro do ecossistema. Uma nova perspectiva surgiu com o advento da biologia molecular, que tem permitido interpretar mais facilmente e de forma mais sensível a diversidade estrutural e funcional dos microrganismos no solo. Nos últimos anos, têm surgido importantes contribuições ao estudo da diversidade microbiana, baseadas em dados de modelagem, associando-a com a qualidade do

¹ Aceito para publicação em outubro de 2003.

² Doutorando em Agronomia – Ciência do Solo pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, pesquisador da Embrapa Roraima, BR 174, Km 08, Distrito Industrial, Boa Vista, RR, CEP 69301-970. E-mail: zilli@cpafrr.embrapa.br

³ Ph.D. em Química Farmacêutica, pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ, CEP 23890-000. E-mail: norma@cnpab.embrapa.br

⁴ Doutorando em Agronomia – Ciência do Solo pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, pesquisador da Embrapa Agrobiologia, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ, CEP 23890-000. E-mail: gustavo@cnpab.embrapa.br

⁵ Ph.D. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico 1.024, Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ, CEP 22460-000. E-mail: heitor@cnps.embrapa.br

⁶ Ph.D. em Fisiologia da Produção, pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ, CEP 23890-000. E-mail: mcneves@cnpab.embrapa.br

solo. Neste trabalho, são discutidos os avanços que vêm sendo obtidos nos estudos da diversidade microbiana e o seu uso como indicador da qualidade do solo.

Palavras-chave: microrganismos do solo, sustentabilidade do solo, bioindicadores.

MICROBIAL DIVERSITY AS INDICATOR OF SOIL QUALITY

ABSTRACT

Soil quality is an ample concept referring to the equilibrium between the chemical, physical and biological components of the soil. In order to evaluate soil quality it has been postulated the need of identifying indicatives parameters of soil conservation and/or degradation. Microorganisms are at the base of the food web and related with several ecological processes, therefore, microbial diversity is considered an important indicator of soil quality. This diversity is generally presented as indexes due to difficulties in assessing and interpreting its role within the ecosystem. Nevertheless, a new perspective is emerging due to the progresses of molecular biology, allowing the interpretation of structural and functional diversity of soil microorganisms in an easier and more sensitive way. Recently, important contributions to the study of microbial diversity, based on modeling frameworks have been reported and associated with soil quality. In this review we discuss the advances in the study of microbial diversity and its use as an indicator of soil quality.

Key-words: soil microorganisms, soil sustainability, ecological indicators.

INTRODUÇÃO

A agricultura moderna é caracterizada pela busca constante do aumento da produtividade das culturas agrícolas por meio da utilização da mecanização, irrigação, adubação química e aplicação de pesticidas, aliadas ao melhoramento dos genótipos vegetais. Os programas governamentais para o setor agrícola nas décadas de 70 e 80 contribuíram grandemente para o desenvolvimento de tecnologias que possibilitaram a abertura de novas fronteiras agrícolas, como o Cerrado, onde são cultivados atualmente mais de 15 milhões de hectares, e a tecnificação da agropecuária brasileira, a qual tem apresentado profundos reflexos nas safras agrícolas atuais.

Entretanto, apesar desse cenário otimista, o impacto ambiental causado pela intensificação da exploração agrícola nem sempre recebeu a atenção necessária. A ausência de conhecimento aprofundado sobre o ecossistema e/ou

planejamento inadequado na utilização das terras levou a um quadro de intensa degradação ambiental, com perda de recursos não-renováveis e da biodiversidade não só no Brasil como em outros países (Shiki, 1997).

Esse cenário “pós-revolução verde” passou a exigir, em âmbito mundial, a busca de parâmetros capazes de mostrar e atestar que um agroecossistema está sendo perturbado ou que não é sustentável do ponto de vista ambiental e econômico. Nesse sentido, alguns indicadores mais facilmente mensuráveis/visíveis, como a análise da fertilidade química do solo e, principalmente, a presença de erosão nas lavouras, começaram a ser utilizados para avaliar o efeito das práticas agrícolas, então desenvolvidas, na degradação das áreas cultivadas (Derpsch, 2000).

A constatação do aumento de áreas agrícolas degradadas tem levado a uma mudança de concepção do uso da terra, baseada em uma visão holística do processo agrícola, onde os recursos naturais (solo, água e biodiversidade) são explorados de forma mais sustentável. Percebe-se, desde a última década, que a sociedade tem debatido de forma incisiva os atuais sistemas de produção agrícola, observando-se um aumento gradativo do número de adeptos tanto na sociedade como no meio científico de uma agricultura menos impactante ao ambiente. Frutos dessa nova concepção é o constante crescimento do plantio direto, que hoje ocupa no Brasil uma área superior a 15 milhões de hectares (Derpsch, 2000), e o surgimento dos sistemas agrícolas chamados alternativos: agricultura orgânica, agroecologia, agricultura biodinâmica, etc.

Sendo assim, se por um lado existe hoje uma enorme área no País dedicada à monocultura, especialmente para as lavouras de soja, milho e cana-de-açúcar, onde se vislumbra a máxima produtividade baseada no uso de insumos químicos, há, por outro, um apelo emergente ao desenvolvimento de uma agricultura capaz de utilizar os recursos naturais de forma racional e que promova o desenvolvimento de práticas de conservação do solo.

Apesar de não ser recente, a discussão sobre o uso de indicadores vem ganhando força e expõe a dificuldade de se chegar a um consenso sobre quais parâmetros são capazes de atestar o impacto do uso agrícola dos solos. Em termos práticos, os agricultores utilizam indicadores “empíricos”, como a presença de determinadas plantas, insetos, minhocas, entre outros, além da análise da fertilidade química do solo, presença de erosão na propriedade, teor de matéria orgânica no solo e compactação do solo (Karlen et al., 2003). No meio

científico, além desses parâmetros, figuram as avaliações de atividade microbiana, como a respiração do solo e a utilização de fontes de carbono e o tamanho e biodiversidade de macro e microorganismos (Turco & Blume, 1999).

Esta revisão discute a relação entre a diversidade microbiana e a qualidade do solo, assim como os aspectos relacionados aos avanços no estudo da diversidade microbiana.

QUALIDADE DO SOLO

O entendimento atual do conceito de qualidade de solo compreende o equilíbrio entre os condicionantes geológicos, hidrológicos, químicos, físicos e biológicos do solo (Bruggen & Semenov, 2000; Sposito & Zabel, 2003). Esse termo, muitas vezes utilizado como sinônimo de saúde do solo, refere-se à capacidade do solo sustentar a produtividade biológica dentro das fronteiras do ecossistema, mantendo o equilíbrio ambiental e promovendo a saúde de plantas e animais e do próprio ser humano (Doran et al., 1996; Sposito & Zabel, 2003).

O conceito de qualidade do solo surgiu no final da década de 70 e durante os 10 anos seguintes esteve muito associado ao conceito de fertilidade (Karlen et al., 2003). Acreditava-se, por exemplo, que um solo quimicamente rico era um solo com alta qualidade, isto porque tinha a capacidade de prover a produção agrícola. Entretanto, a percepção de qualidade do solo evoluiu, principalmente nos últimos 10 anos, e, num entendimento mais amplo, percebe-se que não basta apenas o solo apresentar alta fertilidade, mas, também, possuir boa estruturação e abrigar uma alta diversidade de organismos.

Dessa forma, a qualidade do solo influencia o potencial de uso, a produtividade e a sustentabilidade global do agroecossistema, sendo seu estudo necessário para fornecer informações sobre o manejo do solo e assegurar a tomada de decisões para uma melhor utilização desse recurso (Sposito & Zabel, 2003).

A indagação de como avaliar a perda de qualidade de um determinado solo em função do manejo agrícola é antiga, controversa e pertinente. A resposta mais adequada parece ser a utilização de características, presentes no agroecossistema, que sejam indicativas do estado de qualidade do solo. Como

consequência, surge uma nova questão: qual ou quais seriam essas características? De um lado, a análise química do solo, embora muito útil para estimar o potencial produtivo do solo, fornece apenas informações sobre a capacidade do solo manter a produtividade vegetal. Por outro, alterações nos atributos físicos ou a perda de matéria orgânica do solo podem levar anos para ocorrer de forma significativa, o que pode revelar tardiamente um estado de degradação do solo (Carter, 1986).

INDICADORES BIOLÓGICOS

Um indicador biológico é freqüentemente definido como a presença ou ausência de uma certa espécie (planta ou animal) em dada área, associada a determinada condição ambiental. Em muitos casos, uma espécie representativa é selecionada e as alterações observadas na população são indicativas das condições dos outros componentes biológicos do ecossistema (Turco & Blume, 1999). Essa estratégia é bastante útil, uma vez que elimina a necessidade de se estudar todos os indivíduos da comunidade biológica.

Por consenso, tem sido estabelecido que as características ideais de um bom indicador ecológico sejam:

- Ser capaz de responder, de forma rápida e acurada, a um distúrbio no solo.
- Refletir os aspectos do funcionamento do ecossistema.
- Possuir processo de avaliação.
- Ser economicamente viável.
- Ter distribuição universal e independente de sazonalidade (Visser & Parkinson, 1992).

Organismos invertebrados de solo, como minhocas, térmitas e protozoários, têm sido utilizados como bioindicadores e, com menor ou maior sensibilidade, demonstram o estado da qualidade do solo ante as ações antrópicas (Turco & Blume, 1999). Esses organismos, de certa forma, são fáceis de serem avaliados, pois os métodos de avaliação são baseados na identificação e contagem dos indivíduos. Entretanto, são parâmetros muitas vezes “frágeis”, à medida que as populações de fauna do solo sofrem grande influência sazonal e sua

sobrevivência é extremamente dependente da presença de habitats específicos (Doran et al., 1996).

Classicamente, o indicador microbiológico mais utilizado tem sido, em termos práticos, o grupo dos coliformes. O termo coliforme engloba um amplo grupo de bactérias que vivem no trato digestivo de vertebrados, são aeróbias ou facultativas, gram-negativas, não formadoras de esporos e capazes de fermentar lactose em 48 horas após a incubação a 35°C. Segundo essa definição, coliformes englobam os gêneros bacterianos *Escherichia*, *Klebsiella* e *Enterobacter* (Brock & Madigan, 1991, citado por Turco & Blume, 1999). A presença de coliformes em amostras ambientais indica a qualidade sanitária do solo e da água. O uso de indicadores como a presença de *Escherichia coli*, e não de bactérias causadoras de doenças, têm as vantagens de a bactéria estar universalmente distribuída em elevado número e ser de fácil detecção (Turco & Blume, 1999). No entanto, essa avaliação, apesar de ser capaz de atestar aspectos de sanidade, é inadequada como indicador de qualidade do solo num sentido mais amplo.

A biomassa microbiana do solo, com sua atividade avaliada pela evolução de CO₂ in situ ou em laboratório, também tem sido utilizada como indicativo da condição ambiental (De-Polli & Guerra, 1997). Os métodos de avaliação da biomassa microbiana do solo são bastante variados, mas, de forma geral, permitem a avaliação do pool de carbono e, também, de outros nutrientes contidos nos microrganismos (De-Polli & Guerra, 1997). A razão entre o CO₂ evoluído e o pool de carbono da biomassa microbiana fornece o quociente metabólico (qCO_2), que indica o estado metabólico dos microrganismos e pode ser utilizado como indicador de estresse/perturbação ou estabilidade do ecossistema (De-Polli & Guerra, 1997). Por meio dessa abordagem, tem sido demonstrado que a biomassa microbiana responde de maneira diferenciada aos manejos agrícolas adotados em cada agroecossistema (Cattelan & Vidor, 1990; Moreira & Siqueira, 2002).

Porém, o uso desses parâmetros como indicadores de qualidade do solo é comprometido, uma vez que a abundância e atividade dos microrganismos são muito suscetíveis às variações sazonais, principalmente temperatura e umidade. Além disso, a biomassa microbiana fornece apenas uma estimativa quantitativa da diversidade de microrganismos, não considerando sua composição, ou a estrutura das comunidades microbianas. Assim, compreende-se ser neces-

sário agregar ao conhecimento da biomassa microbiana informações sobre seus aspectos qualitativos, de forma a permitir uma avaliação mais adequada da qualidade de um solo.

DIVERSIDADE MICROBIANA

A diversidade de microrganismos como indicador da qualidade do solo tem sido bastante debatido, especialmente na última década, com o advento de técnicas de biologia molecular que têm favorecido a avaliação dos microrganismos em amostras ambientais (Coutinho et al., 1999; Rosado, 2000; Tiedje et al., 2001). O principal argumento a favor dessa característica ambiental é o fato da diversidade microbiana manter-se naturalmente inalterada ao longo do ano (Smit et al., 2001; Johnson et al., 2003).

Diversidade estrutural

Os microrganismos vêm evoluindo a aproximadamente 4 bilhões de anos, e até 2 bilhões de anos atrás eram a única forma de vida na Terra (Ward, 1998). Em virtude da sua longa história evolutiva e da necessidade de adaptação aos mais distintos ambientes, os microrganismos acumularam uma impressionante diversidade genética, que excede, em muito, a diversidade dos organismos eucariontes (Ward, 1998; Hunter-Cevera, 1998). Estudos filogenéticos baseados em seqüências do 16S rDNA mostram, por exemplo, que a distância filogenética entre dois grupos de bactérias – halofílicas e espiroquetas – é 2,5 vezes maior que a distância entre os animais e as plantas, que são classificados em reinos diferentes (Woese et al., 1990; Hugenholtz et al., 1998). Sendo assim, os microrganismos representam o repertório mais rico em diversidade química e molecular na natureza, constituindo a base de processos ecológicos, como os ciclos biogeoquímicos e a cadeia trófica, além de manterem relações vitais entre si e com os organismos superiores (Hunter-Cevera, 1998).

A diversidade de microrganismos é tão vasta quanto desconhecida. Um grama de solo pode conter 10 bilhões de microrganismos, representando milhares de espécies (Rosseló-Mora & Amann, 2001). O número de espécies microbianas identificadas cresce a cada ano, sendo descritos mais de 47.000

fungos, 30.000 protozoários, 26.000 algas, 5.000 bactérias e 1.000 vírus (Wilson, 1988; Rosselló-Mora & Amman, 2001). Esses números são, no entanto, pequenos diante do total de espécies, estimado em cerca de dois milhões (Rosselló-Mora & Amann, 2001). Isso significa que foram descobertas e nomeadas até o presente momento, talvez, menos de 0,1% e no máximo 10% das espécies microbianas, dependendo do hábitat estudado (Trüper, 1992; Rosselló-Mora & Amman, 2001). A principal razão para isso é que, até pouco tempo atrás, os microrganismos tinham que ser cultivados para serem identificados (Pace, 1986) e, além disso, o tamanho microscópico dos microrganismos, a frequência de ocorrência das populações, a sazonalidade, e em muitos casos, a dependência de hospedeiros e/ou substratos específicos para sua sobrevivência e multiplicação também eram importantes limitações (Torsvik & Øvreås, 2002).

Em um agroecossistema, a variação da diversidade microbiana ao longo das estações do ano ainda não é bem compreendida, já que em cada estação parece ocorrer uma comunidade microbiana dominante acompanhada de outras pouco abundantes que, muitas vezes, estão abaixo do nível de detecção dos métodos atuais de avaliação (Torsvik & Øvreås, 2002). Tais variações estão diretamente ligadas ao regime hídrico e ao clima da região, à estrutura e ao manejo do solo, e ao teor e à qualidade dos resíduos vegetais aportados (Rogers & Tate III, 2001; Tiedje et al., 2001). Um solo com teor elevado de matéria orgânica tende a manter a população microbiana mais estável ao longo do ano, provavelmente, em decorrência da riqueza de nichos ecológicos, pela heterogeneidade das fontes de carbono (De Fede et al., 2001; Grayston et al., 2001).

Também dentro de um agroecossistema, Sessitsch et al. (2001) observaram que, em solos sujeitos a diferentes fertilizações, mais de 80% das bactérias estão localizadas em microporos de microagregados (2-20µm). Esses micro-habitats oferecem condições favoráveis para o crescimento bacteriano, por causa da disponibilidade de água e substrato, difusão de gases e proteção contra predadores. Esses autores também sugerem que o tamanho das partículas possui grande impacto na diversidade de microrganismos. Eles observaram maior diversidade microbiana nas frações silte e argila do solo e menor na fração areia. Nas frações silte e argila, houve o predomínio de bactérias da divisão *Holophaga* e *Prostheco bacter*, enquanto na fração areia ocorreu o predomínio de a-proteobacteria. Da mesma forma, análises comparativas da qualidade de solos

de Cerrado submetidos a sistemas distintos de manejo (plantio direto e convencional) resultaram em correlações significativas entre aspectos da agregação do solo e estrutura das comunidades de bactérias (Coutinho et al., 2003).

Diversidade funcional

A diversidade funcional compreende a diversidade das atividades microbianas no solo. Ela assume grande importância em avaliações ecológicas dos microrganismos dentro do ecossistema, sobretudo, porque se conhece muito pouco sobre a relação entre diversidade estrutural e funcional desses microrganismos. Existe, entretanto, o consenso de que a diversidade microbiana está diretamente relacionada à estabilidade do ecossistema (Kennedy, 1999).

Os microrganismos do solo podem ser classificados em grupos funcionais de acordo com suas atuações nos processos biológicos do ecossistema. Exemplos desses grupos são os microrganismos envolvidos no ciclo do nitrogênio (diazotróficos, desnitrificadores, amonificadores) e os envolvidos no ciclo do carbono, desde os degradadores de polímeros complexos, até arqueas, incluindo metanogênicas e metanotróficas (Torsvik & Øvreås, 2002).

A diversidade de organismos em um grupo funcional resulta no que se denomina redundância, que pode ser interpretada como um mecanismo de manutenção da continuidade dos processos biológicos, onde a perda de uma espécie seria compensada pela presença de outras, que desempenhariam a mesma “função” no sistema (Kennedy, 1999). Os conhecimentos ainda escassos sobre a diversidade taxonômica de grupos funcionais não permitem a avaliação da contribuição efetiva dos componentes dos grupos funcionais na estabilidade e atividade dos processos (Watanabe, 2001).

De maneira geral, o padrão de resposta, quanto ao metabolismo microbiano no ecossistema, é que a diversidade funcional em uma área sem vegetação, inicialmente, seja baixa. À medida que a vegetação se estabelece, a diversidade metabólica microbiana cresce rapidamente, porém, em estádios de sucessão vegetal mais avançado, a abundância relativa das atividades metabólicas se reduz, mantendo-se estáveis (Torsvik & Øvreås, 2002). É postulado universalmente, também, que a perda de elementos de um grupo funcional pode comprometer em maior ou menor escala os processos por eles desempenhados. Perdas significativas podem levar a uma ruptura do fluxo energético no

ecossistema, uma vez que os processos ecológicos estão interligados e são interdependentes (Peters et al., 2000). Por exemplo, durante a degradação de restos vegetais, atuam centenas de espécies de fungos e bactérias com diferentes níveis de especializações. A perda de espécies-chave em etapas iniciais do processo de degradação da lignina e celulose, por exemplo, pode afetar negativamente o processo de decomposição como um todo (Zak et al., 1994).

A DIVERSIDADE MICROBIANA NA SUSTENTABILIDADE DO SOLO

O solo é um ambiente heterogêneo, composto por fases sólida, líquida e gasosa (Smiles, 1988). A fase sólida é formada por substâncias inorgânicas (areia, silte e argila) e materiais orgânicos (ácidos húmicos, ligninas, hemicelulos e celulose, amido, pectina, lignina, lipídeos, etc.). A fase líquida compreende a solução do solo, onde encontram-se em suspensão elementos químicos e moléculas solúveis. A fase gasosa, representada pelos gases que circulam entre as partículas do solo, é originária de processos bioquímicos, como a respiração.

Ecologicamente, o solo é composto por domínios funcionais, tais como a rizosfera, volume de solo influenciado pelas raízes das plantas; a termitosfera, ambiente influenciado por cupins; a drilosfera, ambiente influenciado por minhocas; as rachaduras, ambiente influenciado por condições edafoclimáticas, etc. Esses domínios são formados por ações de reguladores: plantas, fauna do solo, condições edafoclimáticas, entre outras. E dentro deles há uma série de atividades que envolvem os macro e microrganismos responsáveis por inúmeros processos biológicos, que podem ser particulares ou não a cada domínio, e pela estruturação do solo (agregados, macro e microporos) (Lavelle, 2000).

A atividade metabólica do solo é fortemente influenciada pela presença de raízes e materiais orgânicos em decomposição. Na rizosfera, observa-se uma intensa atividade microbiana, em razão da presença de exsudatos e secreções radiculares que representam as maiores fontes de carbono prontamente disponíveis para os microrganismos (Grayston & Jones, 1996). Fora da zona de influência das raízes, o solo pode ser considerado oligotrófico ou relativamente pobre em fontes de carbono disponíveis (Rosado, 2000).

Em termos de fluxo energético da cadeia trófica, os macrorganismos (macro e mesofauna) desenvolvem principalmente as funções dentritívoras, e os microrganismos são os principais responsáveis pela mineralização dos nutrientes, cerca de 90%, tornando-os disponíveis na solução do solo (Lavelle, 2000).

O conceito de redundância, no ecossistema, tem sido referido à manutenção das funções bioquímicas no ecossistema, mesmo quando ocorre a substituição de um determinado organismo por outro (Walker, 1992). Isso ocorre porque organismos funcionalmente semelhantes exibem várias formas de sobrevivência, adaptando-se a diferentes condições de crescimento e suportando adversidade de diferentes ambientes, habitats e nichos (Perry et al., 1989).

Um solo que apresenta alta redundância de funções no ecossistema provavelmente é capaz de manter em equilíbrio os processos ecológicos, mesmo sob um distúrbio. Essa abordagem definida como resiliência refere-se ao tamponamento dos efeitos de distúrbios externos ao ecossistema. Esse tamponamento depende diretamente da biodiversidade e das interações entre os processos ecológicos (Perry et al., 1989). No solo, a redução da diversidade microbiana pode ser um importante indicador da perda de resiliência e, por consequência, da qualidade do solo. A abundância de algumas espécies de microrganismos parece não ser tão importante quanto a manutenção da diversidade, isso porque a abundância reflete de forma mais imediata a flutuação microbiana de curto prazo e a diversidade revela o equilíbrio entre os diversos organismos e os domínios funcionais no solo (Kennedy, 1999; Lavelle, 2000).

Vê-se, dessa forma, que a diversidade de microrganismos é crítica para o funcionamento do ecossistema, porque há a necessidade da manutenção de processos ecológicos como a decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, agregação do solo e controle de patógenos dentro do ecossistema (Kennedy, 1999). Dessa forma, é extremamente importante a busca de métodos de avaliação da diversidade de microrganismos no solo e também de formas de utilização desses dados como indicadores do estado da qualidade do solo.

A DIVERSIDADE MICROBIANA COMO INDICADOR

A proposta de se utilizar a diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo vem das observações de que os microrganismos, em último

nível, são os responsáveis por recuperarem formas de energia e nutrientes que outros organismos mais evoluídos, como os animais, não conseguem (Loreau, 2001). O nitrogênio é um caso que explica essa condição, pois, antes dos avanços industriais do século 20, sua disponibilidade no solo era basicamente dependente de microrganismos. Dessa forma, por estarem tão intimamente associados aos processos ecológicos do ambiente, os microrganismos apresentam grande potencial como indicadores da qualidade do solo (Hofman et al., 2003).

A diversidade pode ser medida por intermédio de índices matemáticos, que levam em consideração informações taxonômicas na definição das unidades de medida (taxa). Alguns índices, como o de diversidade, de Shannon-Weaver, Simpson e Hill; de riqueza, de Margalef e Menhinik; e de equitabilidade, de Pielou, fornecem informações importantes a cerca do padrão de distribuição de espécies microbianas dentro do ecossistema (Kennedy, 1999).

Entretanto, faltam informações muito importantes para que se possa utilizar a diversidade como um parâmetro indicativo das condições do ambiente. Essas informações começam na própria identificação das espécies microbianas, cujo conceito tem sido objeto de intensa discussão (Woese et al., 1990; Ward, 1998; Rosseló-Mora & Amann, 2001), e se estendem até ao pouco conhecimento sobre a estrutura da comunidade microbiana no solo e como usar a diversidade para atestar que o manejo empregado ao solo afeta a sustentabilidade do agroecossistema. Assim, o estudo da diversidade microbiana do solo está em fase de desenvolvimento e ainda com poucos resultados práticos, e o acúmulo do conhecimento tem sido o principal benefício da pesquisa até então. Deve-se ressaltar, no entanto, que o estudo da biologia molecular dos microrganismos, que, sem dúvida nenhuma, trouxe grande avanço ao estudo da diversidade microbiana, só passou a ganhar importância em meados da década de 80, a partir dos estudos de Stackebrandt et al. (1985), que sugeriram o uso do 16S rDNA para afiliação de grupos bacterianos, muito embora o uso do conteúdo de G-C do DNA fosse sugerido para a taxonomia de bactérias ainda na década de 60.

Recentemente, tentativas de se associar a diversidade de microrganismos do solo com a qualidade do solo têm sido realizadas. Smit et al. (2001) compararam seus resultados com dados de seqüência do 16S rDNA da literatura entre cinco divisões bacterianas (*Acidobacterium*, Proteobacteria, *Nitrospira*, cianobactéria e bactérias verdes sulfurosas), para avaliar a relação entre a

abundância dos grupos microbianos e as condições de fertilidade do solo. Os resultados mostraram que nos solos com alto teor de nutrientes disponíveis há uma seleção positiva de bactérias das divisões *α* e *γ*-proteobacteria, o que é um indicativo de seleção tipo “r”, isto é, seleção de bactérias com altas taxas de crescimento. Por sua vez, nos solos com baixo teor de nutrientes disponíveis, ou alto teor de substratos recalcitrantes, a percentagem de *Acidobacterium* foi mais alta, sendo um indicativo de seleção do tipo “k”, que é uma seleção de bactérias com baixo potencial de crescimento, mas com alta capacidade de competir por substratos. A partir desses dados, Smit et al. (2001) sugeriram que a razão entre o número de Proteobacteria e *Acidobacterium* serve como indicativo da condição nutricional do solo. Os menores valores para essa razão seriam observados em solos oligotróficos; as intermediárias, em solos agrícolas com baixo aporte de matéria orgânica; os altos, em solos agrícolas com alto aporte de matéria orgânica.

Outra abordagem que também abre novas perspectivas para um melhor entendimento da diversidade microbiana no ecossistema é a utilização de modelagem matemática como forma de agrupar os diferentes aspectos relacionados com a diversidade microbiana (Torsvik & Øvreås, 2002). Panikov (1999) propôs o uso de modelo simplificado para agrupar as informações de fisiologia e biologia molecular de microrganismos. O modelo proposto apresenta quatro conjuntos de variáveis, sendo três independentes: recursos minerais (presença e disponibilidade de elementos químicos), radiação solar (luz solar, temperatura, etc.) e transferência de massa (textura e porosidade do solo, regime hídrico, etc.). E o conjunto de variáveis dependentes compreendendo produtos da atividade biossintética de microrganismos e plantas (energia, fontes de carbono, etc.). Segundo o autor, a elevação da temperatura e o aporte de matéria orgânica proporcionaram uma seleção de microrganismos do tipo “l”, que é a seleção de organismos adaptados, servindo de indicativo de que a comunidade microbiana presente no ecossistema Tundra é relativamente estável frente às mudanças globais.

Da mesma forma, Loreau (2001) também deduziu um modelo no qual os produtores primários (plantas) e decompositores (microrganismos) estão associados por meio de fatores limitantes para as plantas, como a ciclagem de nutrientes. Conforme o autor, o modelo mostra que a eficiência dos decompositores em reciclar nutrientes, oriundos de compostos orgânicos, é um parâmetro-chave que controla os processos do ecossistema (produtividade e

biomassa de grupos funcionais). O modelo também prediz que a diversidade microbiana tem efeito positivo na eficiência de ciclagem de nutrientes, contribui para o incremento de processos ecológicos no ecossistema, mostrando estar diretamente ligada à qualidade do solo.

COMO AVALIAR A DIVERSIDADE MICROBIANA?

O estudo da biodiversidade ganhou grande impulso com a implementação da *Agenda 21* durante a Rio-92, realizada no Rio de Janeiro. A partir desse evento, os órgãos de fomento têm mantido linhas de pesquisas que incentivam o estudo e a manutenção da biodiversidade. Como medida, foram mapeadas as regiões no globo terrestre onde se concentram as maiores diversidades de espécies de aves, mamíferos, peixes e vegetais de uma forma geral.

Os estudos com microrganismos tiveram início em 1673, com van Leeuwenhoek, mas somente ganharam impulso em 1857, com os estudos de Louis Pasteur. A primeira grande contribuição à microbiologia do solo foi o isolamento de estirpes de rizóbio no final do século 19 por Beijerinck (Tortora et al., 2000). Naquela época, os estudos eram dificultados, principalmente em função do tamanho microscópico dos microrganismos. Avanços significativos, no entanto, podem ser notados a partir da segunda metade do século 19 (Tortora et al., 2000). Mesmo assim, em função do paradigma científico que exigia que os organismos fossem estudados *in vitro* (Lavelle, 2000; Bull et al., 2000), até pouco tempo atrás, a detecção e identificação de microrganismos em amostras ambientais eram realizadas através de meios de cultura (Torsvik & Øvreås, 2002). No entanto, qualquer meio de cultura é, em maior ou menor grau, seletivo para um ou outro grupo de microrganismo. Isso porque algumas estirpes podem estar em estado não cultivável no ambiente, ficando excluídas da análise. As contagens de células por microscopia refletem apenas uma avaliação quantitativa da população microbiana, sendo pouco informativas sobre a diversidade dos organismos em uma amostra (Zak et al., 1994; Rosado, 2000).

Métodos moleculares de análise da estrutura e diversidade microbiana, utilizando DNA genômico extraído diretamente de amostras ambientais, surgidos na última década, têm permitido um avanço considerável no estudo da ecologia de microrganismos (O'Donnell & Göres, 1999; Ranjard et al., 2000). Essas técnicas permitem a identificação de fatores empregados no manejo do

solo que interferem nas múltiplas funções e habitats da comunidade microbiana (Sayler & Layton, 1990; Peters et al., 2000), bem como a caracterização detalhada da estrutura e sucessão microbiana em solos agrícolas, incluindo os microrganismos não cultiváveis (Hugenholz et al., 1998) e as espécies predominantes, que podem ser utilizadas como indicadores de funcionalidade e qualidade do solo (O'Donnell & Göres, 1999). Por exemplo, baseado nessas técnicas, foi mostrado que as bactérias do gênero *Nitrosomonas*, ao contrário do que se acreditava, não são as mais importantes entre as bactérias do solo que oxidam amônia. Foi identificada uma bactéria dominante de um outro taxon, que desempenha a mesma função que *Nitrosomonas* spp., e que, no entanto, não é cultivável pelos meios de cultura tradicionais (Liesack & Stackebrandt, 1992; Felske et al., 1997).

A diversidade microbiana estrutural vem atualmente sendo estudada através de métodos que se baseiam na investigação de parte da sequência do DNA, notadamente o gene 16S rDNA, em bactérias, e 18S rDNA, para fungos, que é amplificado por PCR e posteriormente caracterizado através da clonagem e sequenciamento ou então analisado por eletroforese, por meio das técnicas de Ardra, T-RFLP, RAPD, RISA, DGGE/TGGE e SSCP, obtendo-se um perfil da comunidade microbiana (Ranjard et al., 2000; Kozdrój & Van Elsas, 2001). A diversidade funcional vem sendo estudada por métodos baseados em atividades enzimáticas específicas (b-glicosidade, urease, fosfatase alcalina e aril sulfatase) (Tabatabai, 1994; Carneiro, 2000; Moreira & Siqueira 2002), utilização de fontes de carbono, principalmente através do sistema comercial Biolog (Wünsche et al., 1995; Heuer & Smalla, 1997; El Fantroussi et al., 2000), e perfil de ácidos graxos fosfolipídicos (PFLA) que vêm sendo bastante difundidos (Torsvik & Øvreås, 2002).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma moderna concepção de qualidade de solo deve ser coerente com as particularidades inerentes a cada ecossistema. Deve considerar, por exemplo, que o principal problema nos solos tropicais é a degradação do solo e a carência de nutrientes, enquanto, nos solos temperados, a contaminação química costuma ser a maior preocupação. Essa abordagem diferenciada é essencial para que se encontre soluções que efetivamente contribuam para o desenvolvimento de

manejos sustentáveis do solo. Além disso, a difusão do conceito de qualidade do solo tanto entre pesquisadores como entre agricultores é um fator importante para o desenvolvimento de aspectos culturais voltados à agricultura.

Diante dos conhecimentos atuais, o uso da diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo vem tendo um avanço muito importante. Isso porque tem se tornado consenso que a diversidade microbiana possui importantes vantagens como indicador de qualidade do solo.

Porém, embora muitos esforços tenham sido empregados e resultados obtidos, especialmente nos últimos 10 anos, existem ainda limitações que dificultam a correlação da diversidade microbiana com o conceito de qualidade do solo. Limitações essas que estão associadas aos métodos de avaliação da diversidade microbiana e à compreensão da sua contribuição para os agroecossistemas. É notório o surgimento dos métodos de biologia molecular, que vêm contribuindo de sobremaneira à para a construção do conhecimento da estrutura e funcionalidade da comunidade microbiana no solo. Entretanto, é necessário considerar essas técnicas como uma evolução e complemento dos métodos tradicionais e não uma substituição.

REFERÊNCIAS

BRUGGEN, A. H. C.; SEMENOV, A. M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n.1, p. 13-24, 2000.

BULL, A. T.; WARD, A. C.; GOODFELLOW, M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 64, n. 3, p.573-606, 2000.

CARNEIRO, M. A. C. **Características bioquímicas do solo em duas cronosequências de reabilitação em áreas de mineração de bauxita**. 2000. 166 p. Tese (Doutorado) - Departamento Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

CARTER, M. R. Microbial biomass and index for tillage-induced changes in soil biological properties. **Soil & Tillage Research**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 29-40, 1986.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 133-142, 1990.

COUTINHO, H. L. da C.; OLIVEIRA., V. M. de; MANFIO, G. P.; ROSADO, A. S. Evaluating the microbial diversity of soil samples: methodological innovations. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 71, n. 3, p. 491-503, 1999.

COUTINHO, H. L. da C.; PEIXOTO, R. S.; MADARI, B.; MACHADO, P. L O; GUIMARÃES, C.; ROSADO, A. S. Early indicators of soil quality change for no-tillage systems in the brazilian cerrados. In: WORLD CONGRESS OF CONSERVATION AGRICULTURE, 2003, Foz do Iguaçu. **Anais...** Ponta Grossa, Federação Brasileira de Plantio Direto na Palha, 2003. CD-ROM.

DE FEDE, K. L.; PANACCIONE, D. G.; SEXTONE, A. J. Characterization of dilution enrichment cultures obtained from size-fractionated soil bacteria by BIOLOG[®] community-level physiological profiles and restriction analysis of 16S rDNA genes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 11, p. 1555-1562, 2001.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G M. **Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo:** método de fumigação-extração. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1997. 10 p. (Embrapa- CNPAB. Documentos, 37).

DERPSCH, R. Expansão mundial do plantio direto. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, v. 59, n. 1, p. 32 - 40, 2000.

DORAN, J. W.; SARRANTONIO, M.; LIEBIG, M. A. Soil health and sustainability. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 56, p. 2-54, 1996.

EL FANTROUSSI, S.; VERSTRAETE, W.; TOP, E. M. Enrichment and molecular characterization of a bacterial culture that degrades methoxy-methyl urea herbicides and their aniline derivatives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5110-5115, 2000.

FELSKE, A.; ENGELEN, B.; STACKEBRANDT, E.; AKKEMANS, A. L. D. Ribosome analysis reveals prominent activity of uncultured member of the class actinobacter in grassland soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n. 7, p. 2983-2989, 1997.

GRAYSTON, S. J.; GRIFFITH, G. S.; MAWDESLEY, J. L.; CAMPEBELL, C. D.; BARDGETT, R. D. Accounting of variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 4/5, p. 533-551, 2001.

GRAYSTON, S. J.; JONES, D. V. D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with an annual plant: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 29-56, 1996.

HEUER, H.; SMALLA, K. Evaluation of community-level catabolic profiling using BIOLOG GN microplates to study microbial community changes in potato phyllosphere. **Journal of Microbiology Methods**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 49-61, 1997.

HOFMAN, J.; BEZCHLEBOVÁ, J.; DUŠEK, L.; DOLEŽAL, L.; HOLOUBEK, I.; AND—L, P.; ANSORGOVÁ, A. ALÝ, S. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. **Environment International**, Amsterdam, v. 28, n. 8 , p. 771-778, 2003.

HUGENHOLTZ, P.; GOEBEL, B. M.; PACE, N. R. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 180, n. 18, p. 4765-4774, 1998.

HUNTER-CEVERA, J. C. The value of microbial diversity. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 278-285, 1998.

JOHNSON, M. J.; LEE, K. Y.; SCOW, K. M. DNA fingerprint reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 279-303, 2003.

KARLEN, D. L.; DITZLER, C. A.; ANDREWS, S. S. Soil quality: why and how? **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 145-156, 2003.

KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 65-76, 1999.

KOZDRÓJ, J.; Van ELSAS, J. D. Structural diversity of microorganisms in chemically perturbed soil assessed by molecular and cytochemical approaches. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 43, n. 3 , p. 197-212, 2001.

LAVELLE, P. Ecological challenges for soil science. **Soil Science**, Washington, v. 165, n. 1, p. 73-86, 2000.

LIESACK, W.; STACKEBRANDT, E. Occurrence of novel groups of the domain Bacteria as revealed by analysis of genetic material isolated from Australian terrestrial environment. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 174, n. 15, p. 5072-5078, 1992.

LOREAU, M. Microbial diversity, producer-decomposer interaction and ecosystem processes: a theoretical model. **Proceedings: Biological Sciences**, London, v. 268, p. 303-3098, 2001.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo** Lavras: UFLA, 2002. 625 p.

O'DONNELL, A. G.; GÖRES, H. E. 16S rDNA methods in soil microbiology. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 10, n. 3, p. 225-229, 1999.

PACE, N. R.; STAHL, D. A.; LANE, D. J.; OLSEN, G. J. The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. **Advances in Microbial Ecology**, New York, v. 9, n. 1, p. 1-55, 1986.

PANIKOV, N. S. Understanding and prediction of soil microbial community dynamics under global change. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 11, n. 1, p. 161-176, 1999.

PERRY, D. A.; AMARANTHUS, M. P.; BORCHERS, J. G.; BORCHERS, S. L.; BRAINERD, R. E. Bootstrapping in ecosystems. **Bioscience**, Washington, v. 39, n. 4, p. 230-237, 1989.

PETERS, S.; KOSCHINSKY, S.; SCHWIEGER, F.; TEBBE, C. C. Seccession of microbial communities during hot composting as detected by PCR-Single-Strand-Conformation Polymorphism-based genetics profiles of small-subunit rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 3, p. 930-936, 2000.

RANJARD, L.; POLY, F.; NAZARET, S. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment. **Research in Microbiology**, Paris, v. 51, n. 3, p. 167-177, 2000.

ROGERS, B. F.; TATE III, R. L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 10, p. 1389-1401, 2001.

ROSADO, A. S. Diversidade e ecologia de microrganismos do solo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICRO-BIOLOGIA DO SOLO, 5; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2, 2000, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2000. CD-ROM..

ROSSELÓ-MORA, R.; AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiology Review**, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 39-67, 2001.

SAYLER, G. S.; LAYTON, A. C. Environmental and application of nucleic acid hybridization. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 44, n. 10, p. 625-648, 1990.

SESSITSCH, A.; WEILHARTER, A.; GERZABEK, M. H.; KIRCHMANN, H.; KANDELER, E. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 9, p. 4215-4224, 2001.

SHIKI, S. Sistema agroalimentar no cerrado brasileiro. In: SHIKI, S.; SILVA, J.G. da; ORTEGA, A.C. (Org.). **Agricultura, meio ambiente e sustentabilidade do cerrado brasileiro**. Uberlândia: UFU, 1997. p.135-166.

SMILES, D. E. Aspects of the physical environment of soils organisms. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 6, n. 3, p. 204-215, 1988.

SMIT, E.; LEEFLANG, P.; GOMMANS, S.; VAN DEN BROEK, J.; VAN, M. S.; WERNARS, K. Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 5, p. 2284-2291, 2001.

SPOSITO, G.; ZABEL, A. The assessment of soil quality. **Geoderma**, Amsterdam, v. 114, n. 3/4, p. 143-144, 2003.

STACKEBRANDT, E.; LUDWING, W.; FOX, G. E. 16S ribosomal RNA oligonucleotide cataloging. **Methods in Microbiology**, London, v. 18, n. 1, p. 75-107, 1985

TABATABAI, M. A. Soil enzyme. In: WEAVER, R. W. (Org.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 775-833.

TIEDJE, J. M.; CHO, J. C.; MURRAY, A.; TREVES, D.; XIA, B.; AHOU, J. Soil teeming with life: new frontiers for soil science. In: REES, R. M.; BALL, B. C.; CAMPEBELL, C. D.; WATSON, C. A. (Org.). **Sustainable management of soil organic matter**. Wallingford: CAB International, 2001. p. 393-412.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 240-245, 2002.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artemd, 2000. 827 p.

TRÜPER, H. G. Prokaryotes: an overview with respect to biodiversity and environmental importance. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 1, n. 2, p. 227-236, 1992.

TURCO, R. F.; BLUME, E. Indicators of soil quality. In: SIQUEIRA, J. O; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. G. R.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Org.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS ; Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 529-549.

VISSER, S.; PARKINSON, D. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganism. **American Journal of Alternative Agriculture**, Greenbelt, v. 7, n. 1, p. 33-37, 1992.

WALKER, B. H. Biodiversity and ecological redundancy. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 6, n. 1, p. 18-23, 1992.

WARD, D. M. A natural species concept for prokaryotes. **Current Opinion in Microbiology**. Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 271-277, 1998.

WATANABE, K. Microorganism relevant to bioremediation. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 12, n. 4, p. 237-241, 2001.

WILSON, E. O. The current state of biology diversity. In: WILSON, E. O. (Org.). **Biodiversity**. Washington: National Academy Press, 1988. p. 3-18.

WOESE, C. R.; KANDLER, O.; WHEELIS, M. L. Towards a natural system of organism: proposal for the domains *Archea*, *Bateria* and *Eukarya*. **Proceedings of the National Academy of Science of USA**, Washington, v. 87, n. 12 , p. 4576-4579, 1990.

WÜNSCHE, L.; BRÜGGEMANN, L.; BABEL, W. Determination of substrate utilization patterns of soil microbial communities: an approach to assess population changes after hydrocarbon pollution. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 17, n. 4, p. 295-306, 1995.

ZAK, J. C.; WILLIG, M. R.; MOORHEAD, D. L.; WILDMAN, H. G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 9, p. 1101-1108, 1994.