

# Cinética da reação de redução de nitrato por actinomicetos isolados do solo

II — Influência dos Elementos Minerais \*

S. Joly

Instituto Zimotécnico

Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz

---

(\*) Recebido para publicação em 5/7/60.

## 1. — INTRODUÇÃO

Baseando-nos nos resultados do precedente trabalho, em impressão nos Anais da ESALQ, sôbre a influência da concentração hidrogênio-iônica na redução de  $\text{NO}_3$  a  $\text{NO}_2$  por Actinomicetos isolados de solo, pareceu-nos oportuno verificar a influência dos elementos minerais maiores.

Duas são as razões que afetam êste motivo: primeiro, porque êsses elementos são essenciais à vida da planta: a outra causa é que são constituintes geralmente normais em um solo.

Desde 1900 que surgiu com BEIJERINK as primeiras idéias sôbre a capacidade de reduzir nitrato por Actinomicetos.

Muitos pesquisadores têm estudado êsse assunto, encarando-o sob vários aspectos. Foi assim que KRAINSKY (1914), constatou o consumo dêsse composto nitrogenado por várias espécies, as quais o obtinham por redução de nitrato.

Depois, WAKSMAN (1919) fêz um estudo da função que desempenham as várias fontes de C nessa reação biológica.

Outros fizeram diferentes observações com respeito a essa atividade biológica.

## 2. — MATERIAL E MÉTODOS

Escolhemos 10 cepas de Actinomicetos isolados de um solo Latosol vermelho amarelo, dentre aquelas já ensaiadas no precedente trabalho. Tomamos cepas não redutoras de nitrato e algumas redutoras dêsse mesmo composto nitrogenado, conforme estão mencionadas no aludido trabalho.

O meio nutritivo básico usado foi o mesmo adotado no ensaio anterior, cuja fórmula é assim constituída.

### Solução nutritiva

$\text{KNO}_3$ .....	0,1 g.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	2,5
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....	1,25
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	0,003
Glucose .....	5,0
Solução de TRELEASE (2) .....	1 ml
$\text{H}_2\text{O}$ dest. Q. S. ....	1000 ml

O limite de variação da concentração hidrogênio-iônica foi apenas de 5,5 e 6,5, pois, com esta gama obtivemos os melhores resultados constatados na primeira parte dêste trabalho.

1.º tratamento	—	meio nutritivo	básico
2.º	"	"	" sem Mg
3.º	"	"	" sem S
4.º	"	"	" sem K
5.º	"	"	" sem P

O magnésio foi substituído por sódio; o sulfato por cloro; o potássio por sódio e o fosfato por sulfato; tôdas as substituições se fizeram em moles equivalentes de modo que não houve alteração da concentração de catiônios relativamente ao meio básico.

A solução nutritiva foi distribuída em frascos de Erlenmeyer de capacidade de 50 ml, a razão de 30 ml em cada frasco.

Após a inoculação, foram os frascos incubados a 32°C, dêles se retirando amostras para as determinações de NO<sub>2</sub> com 1, 2, 3, 4, 5, e 8 dias de idade da cultura.

O método para determinação de NO<sub>2</sub> usado foi o de GRIESS, cujo resultado foi lido em absorvômetro Evans Electroselenium com comprimento de onda 4.900 A°.

### 3. — RESULTADOS

Os resultados da reação de redução de NO<sub>3</sub> a NO<sub>2</sub> estão registrados no quadro I. O quadro II demonstra os acréscimos e os decréscimos das quantidades de NO<sub>2</sub> produzidos nos vários tratamentos. O quadro III expressa a porcentagem média das reduções de NO<sub>3</sub> a NO<sub>2</sub> ao 5.º e ao 8.º dia, em pH 5,5 e 6,5.

Os gráficos I — II põem em evidência a diferença de atividade manifesta pelas cepas quando se suprimiram alguns dos elementos nutritivos nos diferentes tratamentos. O gráfico IV salienta a alteração da cinética da reação de redução no prazo de 5 dias e em pH 5,5.







GRÁFICO - I

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA INFLUÊNCIA DOS ELEMENTOS NA REAÇÃO DE REDUÇÃO DE  $\text{NO}_3$  A  $\text{NO}_2$  POR ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO



GRÁFICO - II

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA INFLUÊNCIA DOS ELEMENTOS NA REAÇÃO DE REDUÇÃO DE  $\text{NO}_3$  A  $\text{NO}_2$  POR ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO

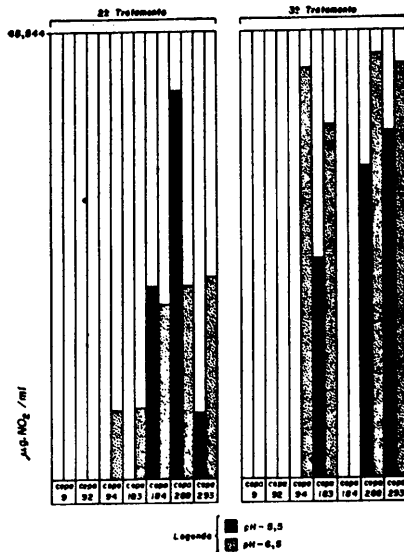
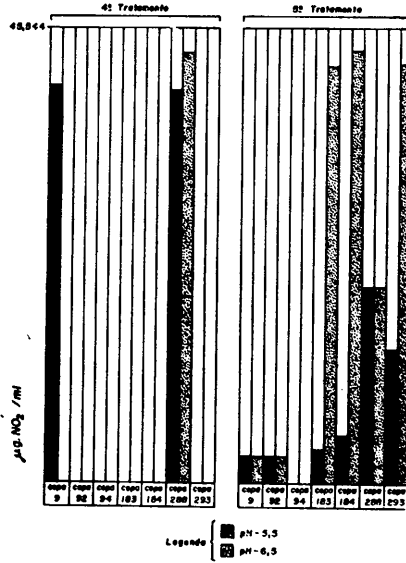


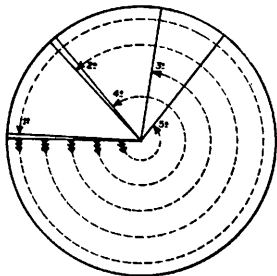
GRÁFICO - III

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA INFLUÊNCIA DOS ELEMENTOS NA REAÇÃO DE REDUÇÃO DE  $\text{NO}_3$  A  $\text{NO}_2$  POR ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO



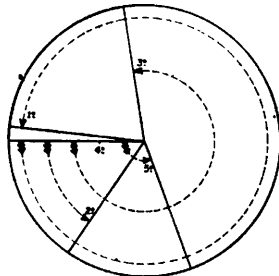
INFLUÊNCIA DOS ELEMENTOS MINERAIS NA CINÉTICA DE REDUÇÃO DE  $\text{NO}_3$  A  $\text{NO}_2$  POR ACTINOMICETOS DO SOLO

Tempo — 5 dias



CEPA - 200

pH — 5,5



CEPA - 203



#### 4. — DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Analisando o quadro I verificamos que houve variação na atividade das cepas estudadas em relação à primeira parte do trabalho. Dêste modo, aquelas que em meio nutritivo completo apresentaram uma determinada capacidade de reação expressa em função do tempo e da quantidade de  $\text{NO}_3$  reduzido, tiveram um comportamento um pouco diferente segundo a variação dos elementos constituintes da solução nutritiva.

Três cepas se mostraram invariáveis, aliás, nada produzindo, de acôrdo com a primeira parte da experiência: foram as de n.º 89, 91 e 327. Outra cepa, a de n.º 9, que se mostrara inativa, revelou certa capacidade nos tratamentos em que houve variação dos elementos integrantes do meio.

Dentre 30 reações positivas nos tratamentos 2, 3, 4, 5 e 14, se realizaram em pH 5,5, e 16 em pH 6,5.

A supressão de qualquer dos elementos maiores ocasiona diminuição da produção de  $\text{NO}_2$ . O quadro II nos mostra que essas cepas ressentem-se da falta dêsses elementos com as seguintes porcentagens na diminuição do resultado final:

Sem K;	Perda . . . .	37,00%	em pH 5,5 e	36,22%	em pH 6,5
» P;	» . . . .	35,56%	» pH 5,5 e	14,73%	» pH 6,5
» Mg;	» . . . .	28,34%	» pH 5,5 e	18,98%	» pH 6,5
» S;	» . . . .	22,63%	» pH 5,5 e	10,82%	» pH 6,5

O exame do quadro II mostra que ao 8.º dia a atividade foi mais intensa, exceto no 4.º tratamento, por uma pequena diferença: o mesmo quadro demonstra que a maior atividade se dá em pH 6,5, também exceção feita ao 4.º tratamento, por diferença desprezível.

Os elementos estudados no presente trabalho são necessários à reação de redução do  $\text{NO}_3$  a  $\text{NO}_2$ . O potássio mostrou-se ser essencial às cepas estudadas.

A falta dêsses elementos promove um retardamento de tempo para atingir o máximo da atividade, determinando uma diminuição da velocidade dessa reação e um decréscimo da quantidade produzida.

#### 5. — CONCLUSÕES

As cepas de Actinomicetos que constituíram objeto dêste estudo mostraram-se sensíveis à falta dos seguintes elementos: K, P, Mg, S, cuja ausência determina uma perda de 37,00%, 35,56%, 28,34% e 22,63%, respectivamente.

A falta de qualquer desses elementos causa um atraso para atingir o máximo de produção: este máximo alcança seu ponto mais alto em pH 6,5, condição diferente daquela que caracteriza o solo de origem desses organismos.

Segue-se que esses seres desenvolvem uma ação eficiente nos solos: se as condições químicas são favoráveis, eles realizam essa função de modo pronto e completo prestando colaboração ideal e, se são falhas essas condições, eles não deixam de realizar a reação, embora com limites menos amplos.

#### 6. — SUMMARY

Some strains of Actinomycetes showed variation in its activity to reduce nitrate to nitrite when the nutrient solution was modified in relation to the major elements.

One of these strains incapable of this reaction showed a strong activity in nutrient solution without K and little activity without P. Otherwise strains capable of reducing nitrate to nitrite had this capacity decreased in absence of each one of the following elements: K, P, Mg, e S. K showed to be the most important of them, followed by P, Mg e S.

Without any of these elements the pH of the nutrient solution has to be increased from 5,5 to 6,5 for the strains capable to reduce nitrate to nitrite preserve its capacity. The time for the reaction is increased from 5 to 8 days and the amount of nitrite obtained is small.

#### 7. — LITERATURA CITADA

- 1 — KRAINSKY, A. 1914 — Die Aktinomyceten und ihre Bedeutung in the Natur, Centbl. Bakt., II 41: 639-688.
- 2 — TRELEASE, S. A. and H. M. Trelease 1935 — Changes in hydrogen-ion concentration of culture solutions containing nitrate and ammonium nitrogen, Am J. Bot., 22: 520-542.
- 3 — WAKSMAN, S. A. 1919 — Studies in the metabolism of actinomycetes, J. Bact., 4: 189-216.