

Tema 1.

Decomposição de matéria orgânica



Decomposição da matéria orgânica

1. Saúde e fertilidade do solo

- Mineralização de Nutrientes: Converte formas orgânicas de nutrientes em formas minerais que as raízes das plantas conseguem absorver.
- Criação de Húmus: O produto final da decomposição é o húmus, uma substância estável que dá ao solo uma cor escura e uma textura rica.
- Capacidade de Troca Catiônica (CTC): Melhora a capacidade do solo de reter nutrientes, impedindo que estes sejam lixiviados, e por isso perdidos.

2. Estrutura física do solo

- Melhoria da Porosidade: Cria espaços no solo para a circulação de ar e água.
- Retenção de Água: O solo rico em matéria orgânica funciona como uma esponja, retendo humidade por muito mais tempo, o que ajuda as plantas durante períodos de seca.
- Prevenção da erosão: Agrega as partículas de solo, tornando-o mais resistente ao impacto do vento e da água.

Decomposição da matéria orgânica

3. Equilíbrio biológico e controlo de pragas

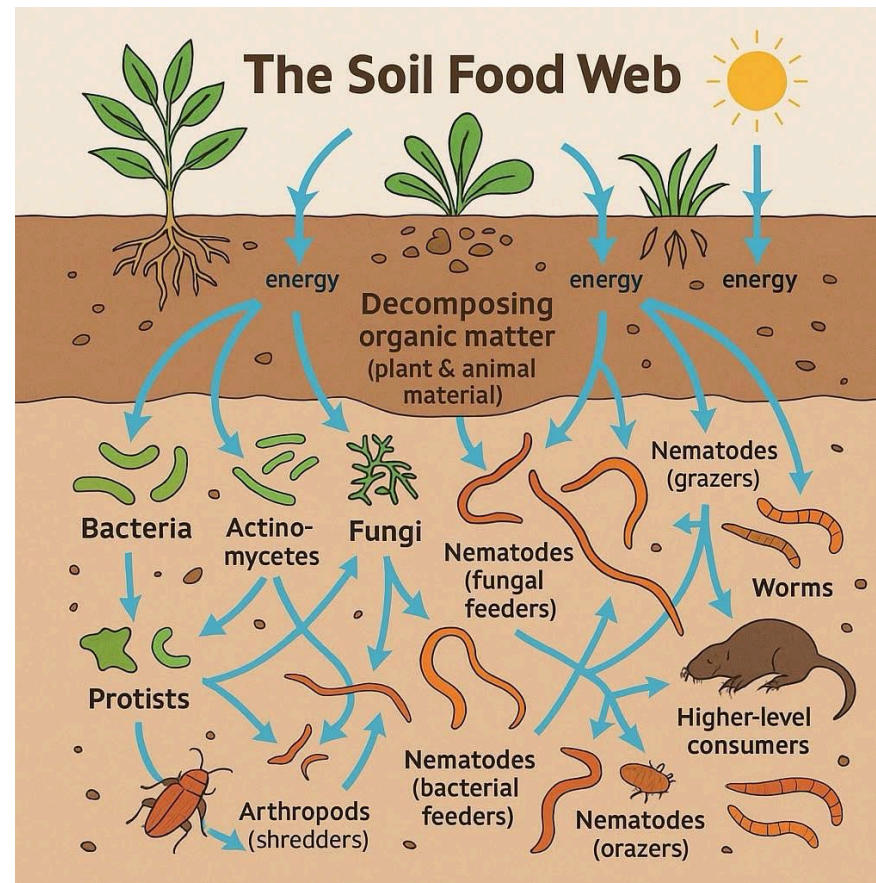
Um solo com decomposição ativa é um ecossistema vibrante.

- Biodiversidade: Sustenta uma vasta rede de seres vivos, incluindo minhocas e microrganismos benéficos.
- Supressão de Doenças: Muitos microrganismos decompositores competem com patógenos do solo, agindo como um controlo biológico natural.

4. Benefícios ambientais globais

O impacto da decomposição vai muito além do jardim ou da horta.

- Sequestro de Carbono: Embora a decomposição liberte CO_2 , uma parte significativa do C fica armazenada no solo sob a forma de matéria orgânica estável, ajudando a mitigar as alterações climáticas.
- Redução de resíduos: Processos como a compostagem desviam resíduos orgânicos dos aterros sanitários, reduzindo a produção de gás metano (um potente gás de efeito estufa).



As principais fases da decomposição

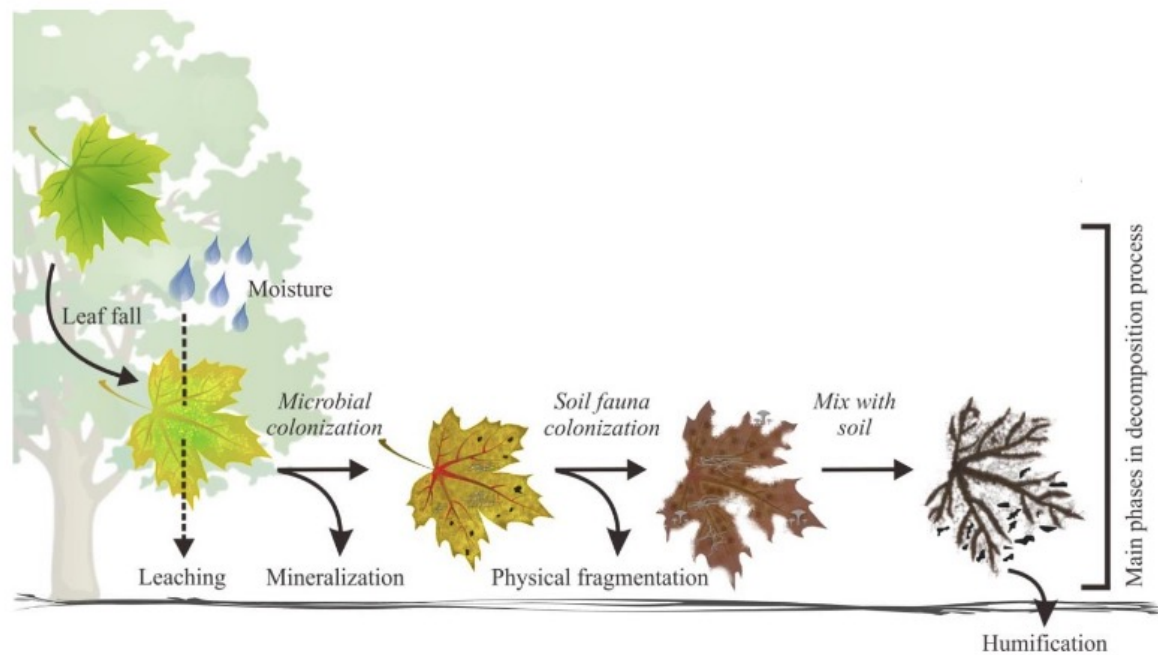
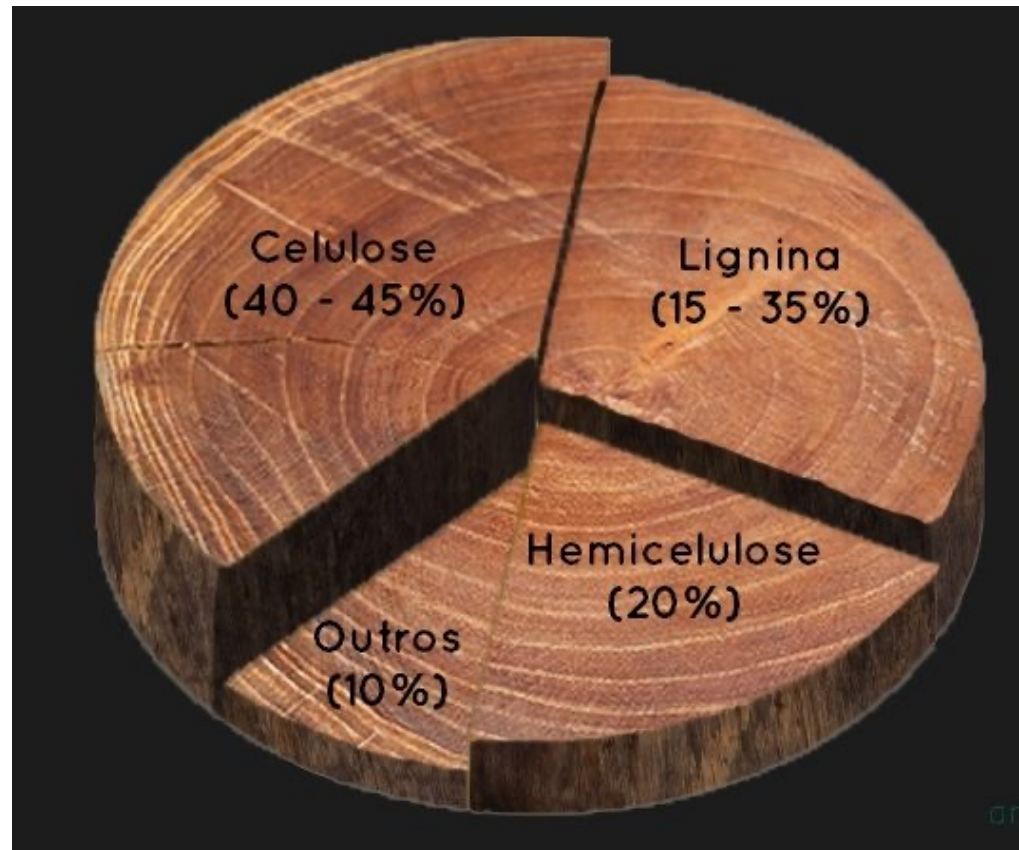


Figure 2 – The major phases of leaf litter decomposition.

Composição da matéria orgânica vegetal

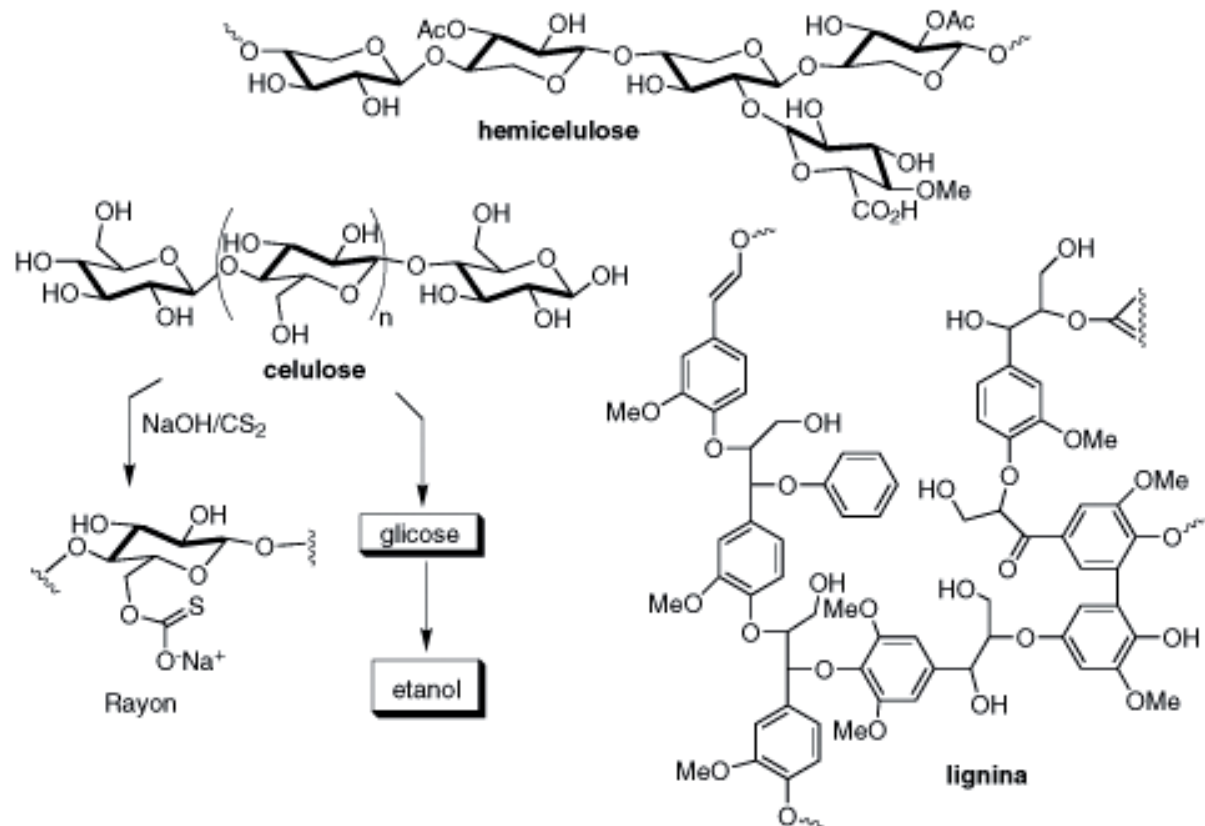


A celulose, a hemicelulose e a lignina são os principais componentes da parede celular vegetal.

A **celulose** é um polímero linear de glucose.

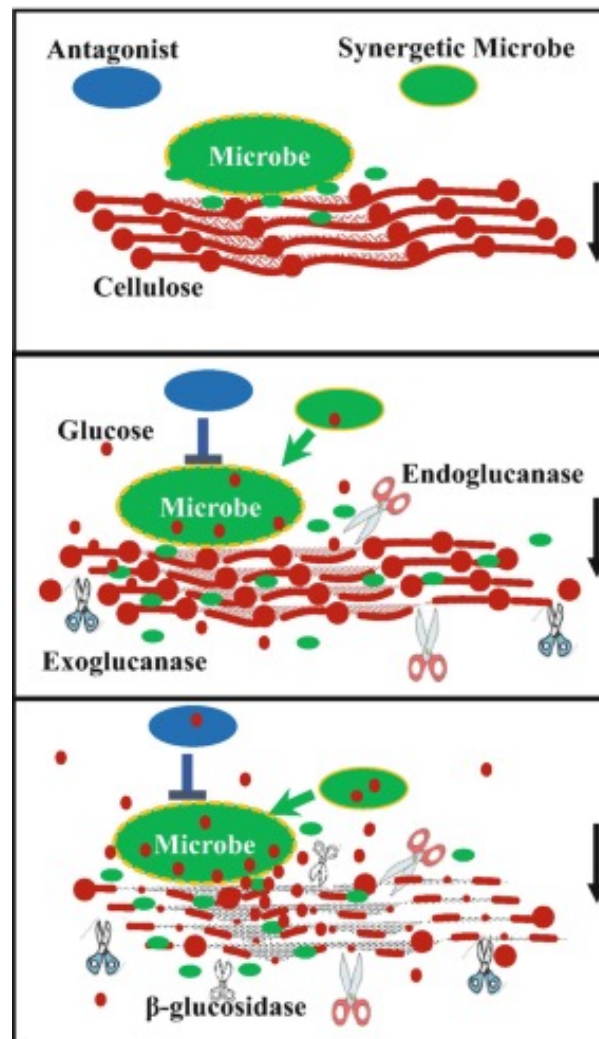
A **hemicelulose** é um heteropolissacarídeo ramificado composto por várias unidades de açúcares (pentoses/hexoses).

A **lenhina** é um polímero aromático tridimensional complexo, sem uma fórmula química única.

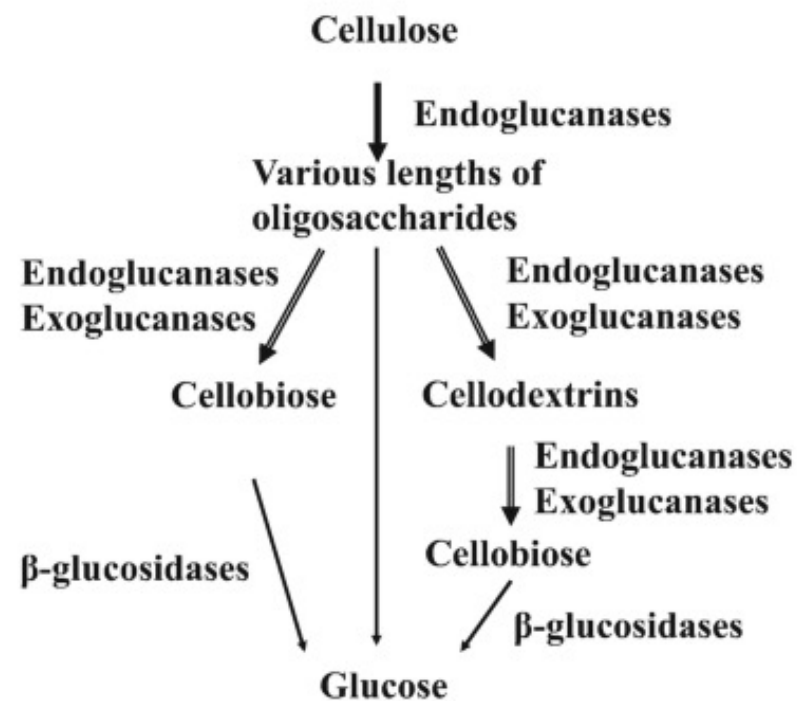


Esquema 4. Estruturas parciais dos componentes lignocelulósicos e derivados

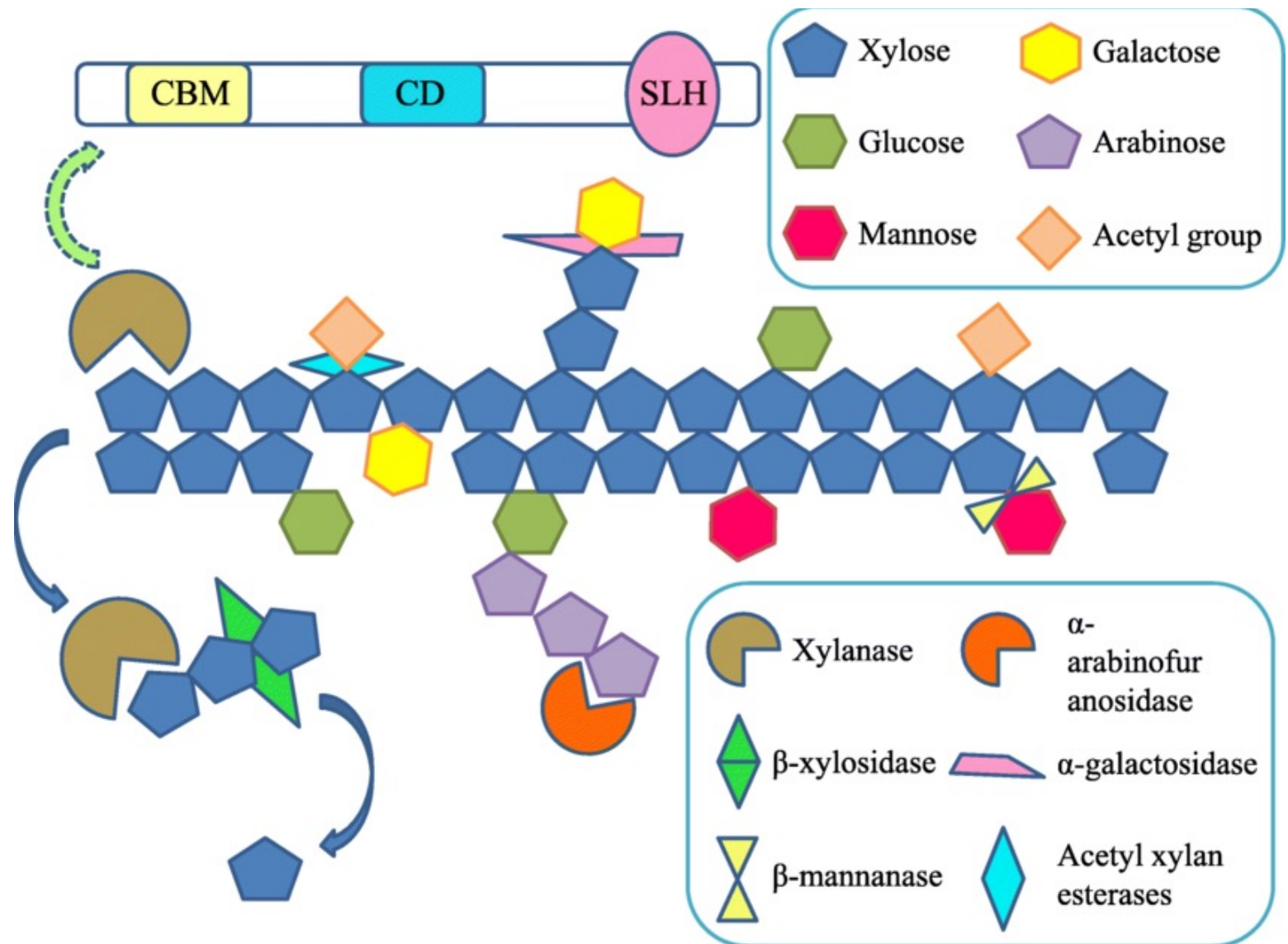
Enzimas envolvidas na decomposição da **celulose**



Cellulose Degradation Mechanism



Enzimas envolvidas na decomposição da **hemicelulose**



Enzimas envolvidas na decomposição da lenhina

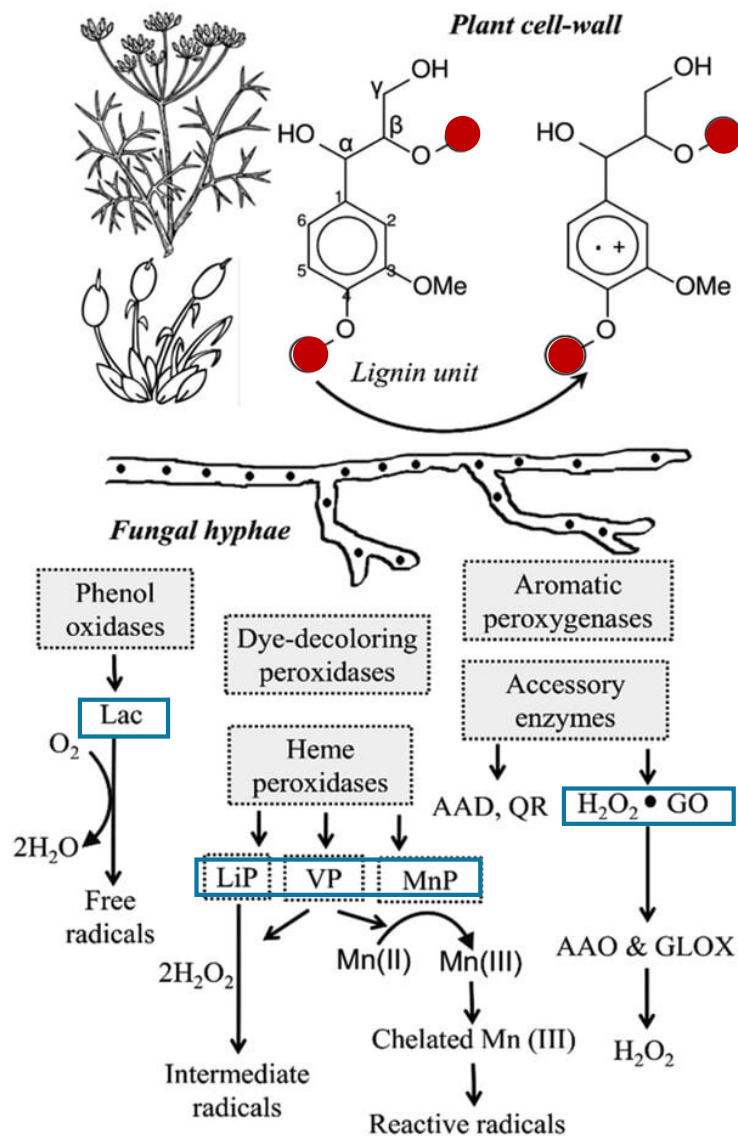
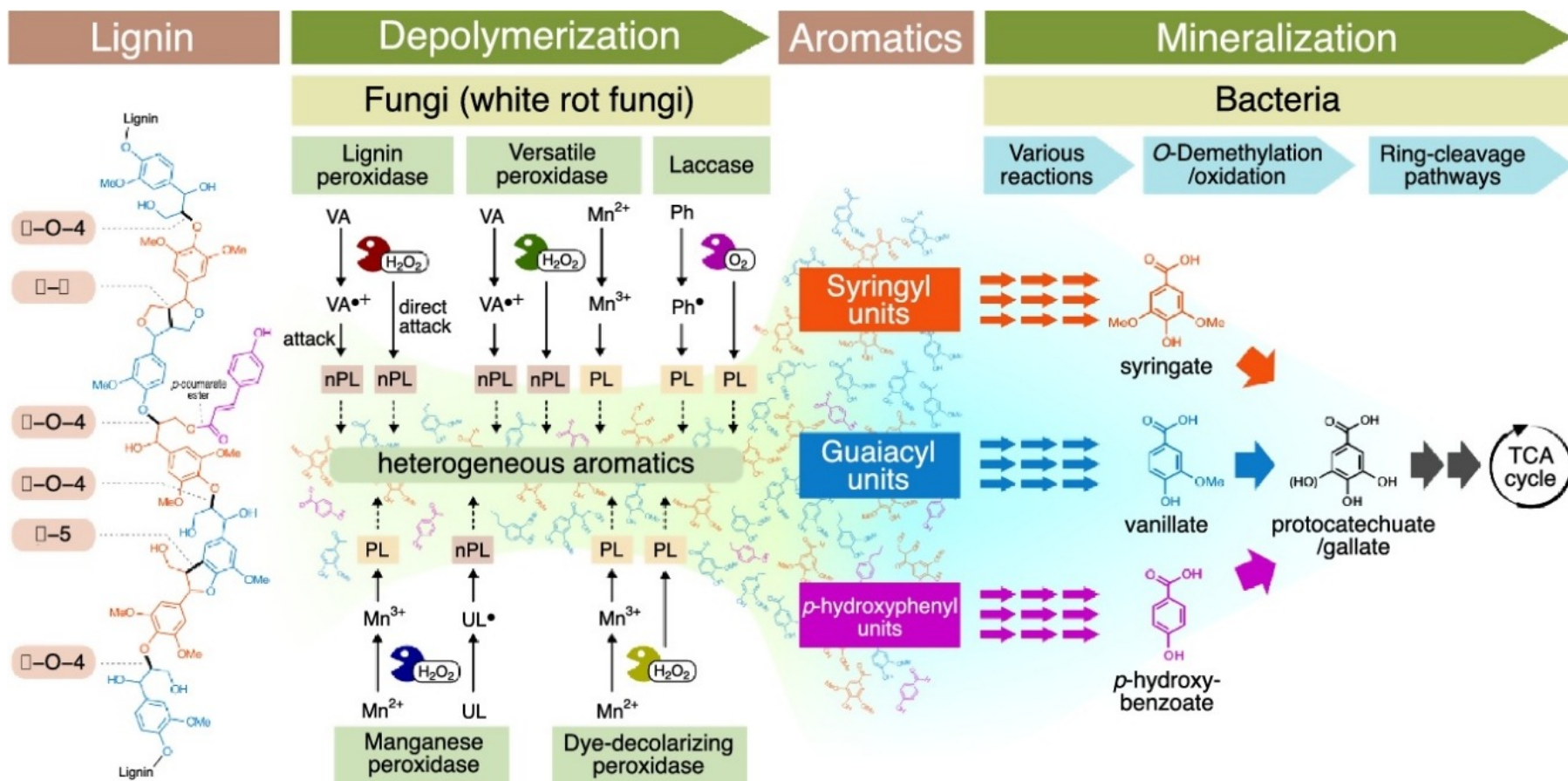


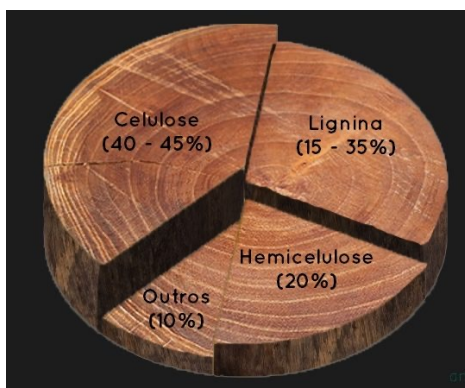
Diagram of enzymatic degradation of lignin (L-containing circles represent the remaining lignin polymer) by white-rot basidiomycetes such as *Pleurotus*. Lac: **laccase**, LiP: **lignin peroxidase**, MnP: **manganese peroxidase**, VP: **versatile peroxidase**, H_2O_2 -GO: **H_2O_2 -generating oxidases** during redox cycling of non-phenolic aromatic fungal aldehydes, with participation of intracellular AAD; AAO: **aryl-alcohol oxidase** (extracellular flavo-oxidase), GLOX: **glyoxal oxidase**. The key step in the degradative process (Peroxidase one-electron oxidation of lignin units) results in an unstable cation radical that suffers different reactions, releasing the corresponding aromatic aldehydes (vanillin in the case of guaiacyl units) which can be intracellularly mineralized. In *P. chrysosporium*, the attack to lignin by LiP requires the presence of VA, probably as an enzyme-bound mediator, and H_2O_2 generated mainly by GLOX action

DOI: [10.21577/0100-4042.20170067](https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170067)



<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.011>

Microrganismos capazes de usar diferentes componente da matéria orgânica vegetal



Components	Microorganisms
Cellulose	Alternaria, Aspergillus, Chaetomium, Coprinus, Fomes, Fusarium, Myrothecium, Penicillium, Polyporus, Rhizoctonia, Rhizopus, Trametes, Trichoderma, Trichothecium, Verticillium, Zygorhynchus, Achromobacter, Angiococcus, Bacillus, Cellfalcicula, Cellulomonas, Cellvibrio, Clostridium, Cytophaga, Polyangium, Pseudomonas, Sorangium, Sporocytophaga, Vibrio, Micromonopora, Nocardia, Streptomyces and Streptosporangium
Hemicellulose	Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Rhizopus, Trichothecium, Zygorhynchus, Chaetomium, Helminthosporium, Penicillium, Polyporus, Coriolus, Fomes, Bacillus, Achromobacter, Pseudomonas, Cytophaga, Sporocytophaga, Lactobacillus, Vibrio and Streptomyces
Lignin	Clavaria, Clitocyle, Collybia, Flammula, Hypholoma, Lepiota, Mycena, Pholiota, Arthrobotrys, Cephalosporium, Humicola, Pseudomonas and Flavobacterium
Starch	Aspergillus, Fomes, Fusarium, Polyporus, Rhizopus, Achromobacter, Bacillus, Chromobacterium, Clostridium, Cytophaga, Micromonopora, Nocardia and Streptomyces
Pectin	Fusarium, Verticillium, Bacillus, Clostridium and Pseudomonas
Inulin	Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Pseudomonas, Flavobacterium, Beneckea, micrococcus, Cytophaga and Clostridium
Chitin	Fusarium, Mucor, Mortierella, Trichoderma, Aspergillus, Gliocladium, Penicillium, Thamnidium, Absidia, Cytophaga, Achromobacter, Bacillus, Beneckea, micrococcus, Pseudomonas, Chromobacterium, Flavobacterium, Nocardia, Streptomyces and Micromonopora
Proteins and nucleic acids	Bacillus, Pseudomonas, Clostridium, Serratia and Micrococcus
Cutin	Penicillium, Rhodotorula, Mortierella, Bacillus and Streptomyces
Tannin	Aspergillus and Penicillium
Humic acid	Penicillium and Polystitus
Fulvic acid	Poria

Crawford (1981), Jin et al. (1990), Eriksson et al. (1990)

Krishna and Mohan, 2017 (DOI 10.1007/s40974-017-0064-9)

Os fungos saprófitos na decomposição

-
- Os fungos são os recicladores por excelência na natureza, decompondo matéria orgânica complexa e devolvendo nutrientes vitais ao solo. Ao segregarem enzimas, decompõem eficientemente matéria vegetal e animal morta, acelerando o processo natural de decomposição.
 - Além disso, como decompositores, os fungos saprófitos ajudam a reduzir a incidência de doenças nas populações de mamíferos, removendo eficazmente as carcaças e os restos mortais da paisagem, enquanto a sua decomposição de árvores, ramos e folhas caídas mantém a quantidade de material “moribundo” no mínimo.
 - Saprófito (origem grega) = *sapros* (“podre”) + *phyton* (planta)

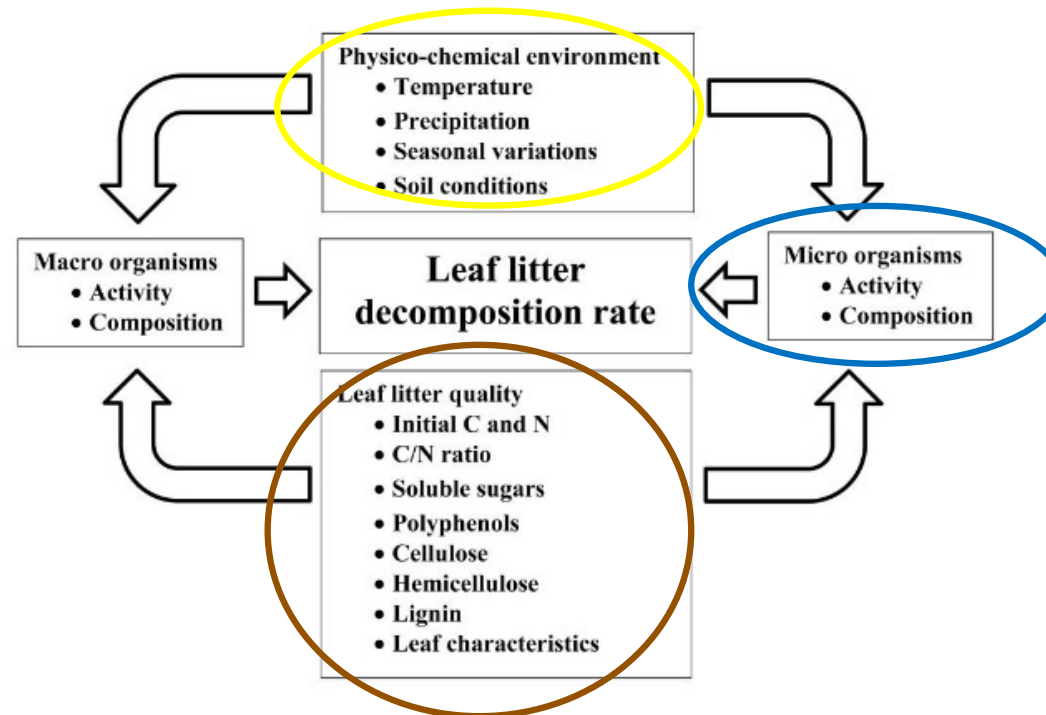


Figure 3 – The main factors that control leaf litter decomposition rate (adapted from Prescott et al. 2000).

Vamos testar:
≠ Isolados
≠ Matéria orgânica
≠ Temperatura

Objetivos

Avaliar e comparar a capacidade de **fungos saprófitos** em decompor diferentes tipos de **matéria orgânica vegetal**, sob **diferentes temperaturas**, utilizando **substratos naturais** em meio sólido.

- Avaliar a capacidade de crescimento e potencial decomposição de substratos vegetais por fungos saprófitos isolados de sapal.
- Analisar as interações entre estirpes em co-inoculação.
- Analisar o efeito da composição química do substrato vegetal.
- Analisar o efeito da temperatura.
- Detetar atividade ligninolítica através da oxidação de guaiacol incorporado no meio.

1. Princípio do método experimental

-
- O método avalia a capacidade de fungos saprófitos degradarem matéria vegetal em meio mínimo contendo diferentes substratos como fonte principal de carbono.
 - Os fungos libertam enzimas extracelulares capazes de degradar cellulose, hemicellulose e lenhina
 - A capacidade decompositora é inferida através de: crescimento micelial, taxa de crescimento, alterações visuais no substrato, e interação entre estirpes.
 - A presença de Guaiacol permite detectar atividade ligninolítica, formando coloração castanho-avermelhada quando oxidado por lacases ou peroxidases.

Substrato vegetal → enzimas extracelulares → degradação → crescimento fúngico + oxidação de guaiacol

2. Microrganismos

-
- Estirpes de fungos do grupo dos chamados “molds”:
 - *Cladosporium* sp. (isolado ambiental) designado C
 - *Marquandomyces* sp. (isolado ambiental) designado M
 - *Penicillium* sp. (isolado ambiental) designado P
 - Cada estirpe testada separadamente
 - Em co-cultura



3. Protocolo para cada grupo

-
- Testar a capacidade de decomposição de material vegetal em:

2 estirpes de fungos e em co-cultura

3 substratos vegetais + controlo negativo

1 réplica

2 temperaturas (+ baixa, e óptima)

3.1. Isolamento de esporos (23 de março)

-
1. Inocular 2 mL de água estéril no centro da colônia.
 2. Com a ajuda do palito, raspar a superfície das colônias para libertar os esporos.
 3. Agitar a placa com movimentos circulares durante 1 minuto.
 4. Recolher para um eppendorf estéril, com a ajuda de uma micropipeta, a suspensão.
 5. Homogeneizar no vórtex.
 6. Inocular 10 μ L da suspensão de cada estirpe (para confirmar a viabilidade) no centro de placas com meio PDA.
 7. Incubar a 28 °C e conservar as suspensões a 4 °C.

3.2. Inoculação (23 de março)

A. Culturas Individuais fornecidas em eppendorfs

1. Inocular 10 μ L no centro da placa de cada estirpe.
2. Incubar à temperatura definida.

B. Co-inoculação (Interação entre estirpes)

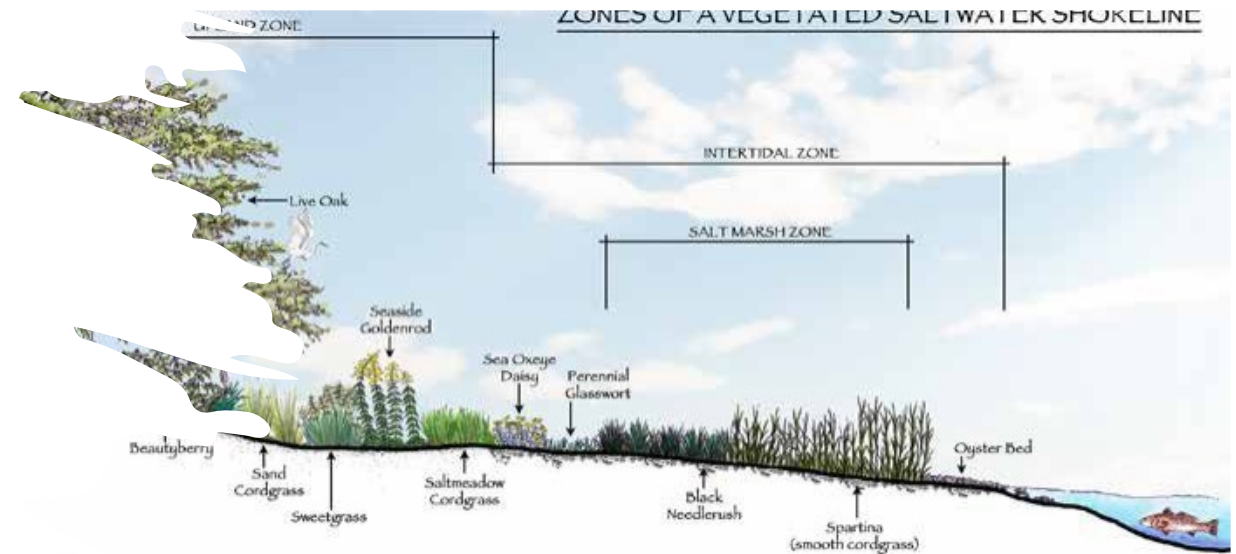
1. Inocular 10 μ L de F1 a ~3 cm de uma extremidade da placa.
 2. Inocular 10 μ L de F2 na extremidade oposta.
 3. Incubar nas mesmas condições.
- Cada grupo deverá testar todos os substratos nas diferentes temperaturas atribuídas.

3.3. Avaliação (31 de março)

-
- Crescimento micelial (diâmetro em mm) em mais do que uma direção, ou seja, fazer uma cruz na caixa (no centro da colônia) e medir o diâmetro nas duas direções
 - Taxa de crescimento (mm/dia)
 - Alterações visuais no substrato
 - Formação de linha de confronto em co-inoculações
 - Sobreposição ou inibição de crescimento
 - Diferenças entre substratos
 - Diferenças entre temperaturas
 - Comparação entre culturas individuais e co-cultura
 - Comparação com controlo negativo
 - Oxidação de guaiacol: presença e intensidade de coloração castanho-avermelhada ao redor do micélio

Síntese final:

- Relacionar composição do substrato com crescimento fúngico
- Interpretar interações interespecíficas em contexto funcional
- Avaliar criticamente resultados qualitativos
- Discutir limitações metodológicas
- Propor melhorias experimentais
- Contextualizar os resultados em ecossistemas de sapal



Desafio



Planificação das etapas da pré-aula:
preparação dos substratos vegetais
preparação dos meios de cultura
organização experimental.

Como preparar os substratos vegetais?

-
- Folhas de *Spinacia oleracea* (espinafre)
 - Folhas de *Quercus coccifera* (carrasco)
 - Celulose microcristalina



Como preparar os meios de cultura?

—

Importante: **não usar PDA ou ágar nutritivo**, para forçar o fungo a utilizar o substrato vegetal.

Como preparar?

Que materiais, equipamento e reagentes são necessários para a aula?

—

Listar