

INTERAÇÃO ENTRE OS GRUPOS FUNCIONAIS DO CICLO DO CARBONO E NITROGENIO NA RIZOSFERA DE TRÊS GRUPOS SUCESSIONAIS DE PLANTAS ARBÓREAS (*Heliocarpus americanus*, *Lithrea molleoides* e *Poecilanthe parviflora*)

INTERACTION AMONG FUNCTIONAL GROUPS OF CARBON AND NITROGEN CYCLING ON THE RHIZOSPHERE OF THE THREE SUCCESSIONAL GROUPS OF TROPICAL WOODY (*Heliocarpus americanus*, *Lithrea molleoides* and *Poecilanthe parviflora*)

¹SARTORI, S. B.; ¹ZAPPAROLI, R. A.; ¹MEDINA, G.M.B.; ¹REIS, J. A. J.; ²DEMÉTRIO, G.B.;
³MATSUMOTO, L.S.

¹ Discente do curso Ciências Biológicas / Universidade Estadual do Norte do Paraná/FALM

² Biólogo – Universidade Estadual do Norte do Paraná/FALM

³ Docente do departamento de Patologia Geral / Universidade Estadual do Norte do Paraná/FALM

RESUMO

A destruição da floresta tropical causa transformações profundas no solo, como a ruptura da ciclagem dos nutrientes, com as conseqüentes perdas de nutrientes minerais e orgânicos do solo. Embora diversos estudos avaliassem os eventos relacionados à regeneração da vegetação tropical, no entanto muito pouco se sabe da dinâmica dos grupos funcionais de microrganismos do solo e seu papel na sucessão vegetal, recomposição da fertilidade e na regeneração das propriedades físicas do solo. Em nosso trabalho, procuramos observar a influência da microbiota do solo, tais como aqueles que participam no ciclo do carbono (celulolíticos, amilolíticos e proteolíticos) e do ciclo do nitrogênio (fixadores de nitrogênio livre) e nos diferentes grupos sucessionais de planta, sendo estes *Heliocarpus americanus* (espécie pioneira), que apresenta um crescimento muito rápido em ambientes de ecossistema degradado, *Lithrea molleoides* (espécie secundária inicial), que apresenta um crescimento rápido no mesmo ambiente e *Poecilanthe parviflora* (espécie secundária tardia), que apresenta um crescimento mais lento dentro dos grupos sucessionais de planta. Estas observações mostraram que a rizosfera dos diferentes grupos sucessionais apresentam diferenças no comportamento das comunidades microbianas, sendo este mais evidente em espécies pioneiras, que apresentam crescimento mesmo em solos degradados, com baixa fertilidade. Reforçando a dependência destas espécies à presença da comunidade funcional de microrganismos para a ciclagem de nutrientes.

Palavras-chave: Ciclo biogeoquímico, comunidade microbiana, rizosfera

ABSTRACT

The destruction of the rainforest cause profound changes in the soil, such as disruption of the cycling of nutrients, with the consequent loss of nutrients and organic soil. While several studies have assessed the events related to the regeneration of tropical vegetation, but very little is known of the dynamics of functional groups of microorganisms in the soil and its role in plant succession, recombination of fertility and regeneration of soil physical properties. In our work, trying to observe the influence of microbial soil, such as those involved in the carbon cycle (cellulolytic, amilolytic and proteolytic) and the cycle of nitrogen (nitrogen fixers free) and the various groups successional plant, which are *Heliocarpus americanus* (pioneer species), which presents a very rapid growth in environments of ecosystem deteriorated, *Lithrea molleoides* (initial secondary species), which presents a rapid growth in the same environment and *Poecilanthe parviflora* (late secondary species), which has a slower growth within groups successional plant. These observations showed that the rhizosphere of different groups successional show differences in the behavior of microbial communities, which is more evident in pioneer species, which show growth even in degraded soils with low fertility. Reinforcing the dependence of these species to the presence of functional community of microorganisms to the cycling of nutrients.

Keywords: Biogeochemistry cycle, microbial community, rhizosphere

INTRODUÇÃO

A rizosfera foi inicialmente definida por Hiltner (Cardoso e Freitas, 1992), em 1904, como a zona de crescimento bacteriano estimulado ao redor das raízes de plantas leguminosas. O crescimento microbiano é estimulado por substâncias nutritivas excretadas pelos tecidos vegetais (ex: aminoácidos, vitaminas e outros compostos). Os vegetais são beneficiados pelos produtos do metabolismo microbiano como agentes fitorreguladores do crescimento, como ácido indolacético, etileno e giberelinas (Andrade, 1995). A vegetação é um fator ambiental pensada como sendo um importante determinante da composição da comunidade microbiana do solo, uma vez que prevê o recurso primário de diferentes compostos de carbono (Nüsslein et. Al, 1999).

O solo como um todo contém uma alta complexidade biológica, bioquímica e física, sendo a diversidade microbiana sem dúvida muito superior que a dos organismos que vivem na sua superfície. A fertilidade do solo, umidade, temperatura e a atividade microbiana influenciam na sobrevivência, estabelecimento e crescimento das plantas (Perry et al, 1987). A destruição da floresta tropical causa transformações profundas no solo, como a ruptura da ciclagem dos nutrientes, com as conseqüentes perdas de nutrientes minerais e orgânicos do solo. Estes processos estão diretamente relacionados com as comunidades de microrganismos funcionais.

Os grupos funcionais de microorganismos envolvidos com nitrogênio, fósforo e o ciclo do carbono são importantes para a manutenção de nutrientes. Esses microorganismos interagem com as raízes de plantas, suprimento de nutrientes e têm uma participação ativa na nutrição e crescimento das plantas (Andrade, 1999). Em geral, produtividade do solo e ciclo dos nutrientes são influenciados pela população microbiana do solo. As relações entre os grupos funcionais de microrganismos do ciclo de C, N, P, e sua influência sobre o crescimento vegetal, são potenciais indicadores para avaliar a perturbação do solo no ambiente. Grande parte desse ciclo ocorre principalmente na camada superficial do solo, com vários mecanismos de entrada e saída de nitrogênio, através de uma sucessão de reações de natureza principalmente bioquímica (Victória, 1992). As práticas agrícolas implantadas pelo homem interferem em quase todas as etapas desse ciclo. A distribuição espacial dos substratos

orgânicos e biomassa microbiana, e a atividade microbiana no solo, é um importante fator determinante da ciclagem de nutrientes e estabilização da matéria orgânica (Ladd et al., 1993).

Neste trabalho estudou-se a influência da assembléia de microrganismos do solo nos diferentes grupos sucessionais de plantas, conforme classificação proposto por Gandolfi et al. (1995). Sabendo que a rizosfera é uma região do solo que está em íntimo contato com as raízes, onde as populações microbianas, estimuladas pelos seus exudatos, desenvolvem um complexo mecanismo de interações que podem ser sinérgicas ou alelopáticas. Esses mecanismos envolvem os ciclos biogeoquímicos (ciclo do carbono e nitrogênio) dos nutrientes e a transformação da matéria orgânica.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação, onde 25 sacos de plásticos negro com 1Kg de solo estéril foram preparados para cada espécie de planta. Foram realizadas 6 avaliações com 5 repetições nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de cultivo. No tempo 0, 5 amostras de solo foram coletadas 7 dias após a recomposição da microbiota do solo e antes do plantio. As análises de variância (ANOVA), com Tukey e teste de regressão linear, com significância de $p < 0,05$. Para as Análises de Regressão Linear também foi considerado como fator mínimo de correlação r^2 .

As espécies de plantas nativas utilizadas e sua provável classificação quanto aos grupos sucessionais foram: Pioneira (P) *Heliocarpus americanus*, Secundária Inicial (ES) *Lithraea molleoides* e Secundária Tardia (LS) *Poecilanthe parviflora*.

Sementes de árvores nativas coletadas no campo foram desinfetados com 1% de hipoclorito de sódio, lavados 2 vezes com água destilada estéril e germinadas em bandejas com areia esterilizada por autoclave ($121^{\circ}\text{C} \cdot 30 \text{ min}^{-1}$). Sacos plásticos preto com 1 Kg de mistura de solo e areia 4:1 foram esterilizados com brometo de metila. Após esterilização os sacos ficaram em repouso por 7 dias. Decorrido o tempo de repouso, 10 ml de filtrado de suspensão de solo foi adicionado em cada saco para recompor a microbiota.

Neste estudo, foram avaliadas a interação sucessional entre os diferentes grupos de espécies lenhosas como P, ES e LS sobre as populações dos grupos funcionais de microrganismos de ciclos biogeoquímicos de carbono celulolíticos, amilolíticos e proteolíticos), e de nitrogênio (fixadores livre de nitrogênio e proteolítico). Duas diferentes populações de fixadores de N foram estimadas. Em primeiro lugar, uma utilizando glicose como C e em segundo uma fonte utilizando malato. Uma amostra do solo (1 g) foi tomada a partir de uma fração desolo da rizosfera homogeneizada de cada unidade experimental para medir o tamanho da população microbiana cultivável (Zuberer, 1994). As amostras foram suspensas em 9 mL de NaCl 0,85% estéril e mantidas à 5°C. Alíquotas (100 µL) de dez diluições [10^{-4} a 10^{-7} para fixadores de N, 10^{-3} a 10^{-6} para amilolíticos, celulolíticos e proteolíticos] foram espalhadas em placas em duplicatas os respectivos meios de cultura, apropriado para enumeração das populações.

As placas foram incubadas a 28°C e contadas após 3 dias, e novamente após 5 dias para permitir o desenvolvimento de colônias de crescimento mais lento e o número de unidades formadoras de colônias por grama de solo seco foi avaliado. As colônias eram consideradas nos meios celulolíticos, amilolíticos proteolítico se o halo de degradação estava presente. Os fixadores de N de vida livre foram mantidos em condições microaerofílicas para o seu crescimento e as colônias que cresceram no meio foram consideradas como positivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de comportamento dos grupos sucessionais de plantas *Heliocarpus americanus* (P), *Lithrea molleoides* (SI) e *Poecilanthe parviflora* (ST) em função do tempo (**Figura 1**). Os grupos sucessionais de plantas utilizados em nosso trabalho estão de acordo com os encontrado por Gandolfi et al. (1995), onde as espécies pertencentes à sucessão primária apresentam um crescimento muito mais rápido e as espécies da sucessão secundária apresenta um desenvolvimento mais lento, em função das suas características morfológicas e fisiológicas.

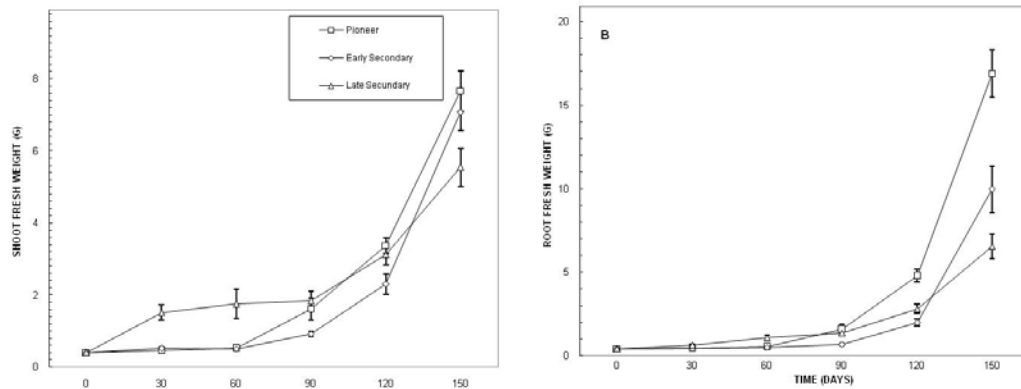


Figura1. Crescimento das plantas arbóreas em função do tempo (parte aérea e raiz)

Análise entre os grupos funcionais de microrganismos do Ciclo do Carbono e do Nitrogênio e grupos sucessionais de plantas (**Figura 2 e 3**).

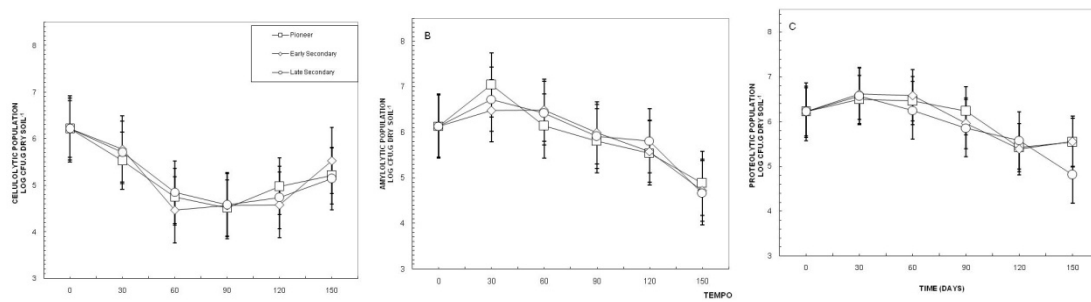


Figura 2. Crescimento dos grupos funcionais de microrganismos do ciclo do Carbono (log UFC.g⁻¹ solo) na rizosfera de diferentes grupos sucessionais de plantas (pioneira, secundária inicial e secundária tardia)

A capacidade de sobrevivência de um microrganismo, quando introduzido no solo depende de fatores abióticos – acidez, temperatura, estresses de água, metais pesados, teores de argila e matéria orgânica (Bottomley, 1992) – e bióticos – antagonismo, predação e sinergismo – do solo. Em função destas variáveis, as diminuições das populações de amilolíticos e proteolíticos nas fases iniciais do desenvolvimento das plantas, estejam relacionados com a competição por nutrientes entre os microrganismos e as plantas, visto que, se trata de solo pobre em matéria orgânica, e as liberações de exsudato pelas plantas não são suficientes para promover a colonização da comunidade microbiota. Já a população de celulolíticos por se tratar de uma comunidade formada na sua maioria por fungos e actinomicetos, sendo assim esta comunidade formada por k estrategistas, grupo o qual varia muito pouca a sua população na rizosfera. Esta consequência da sua habilidade de usar

substrates complexos faz destes organismos independentes do exudato da raiz (Matsumoto, 2005).

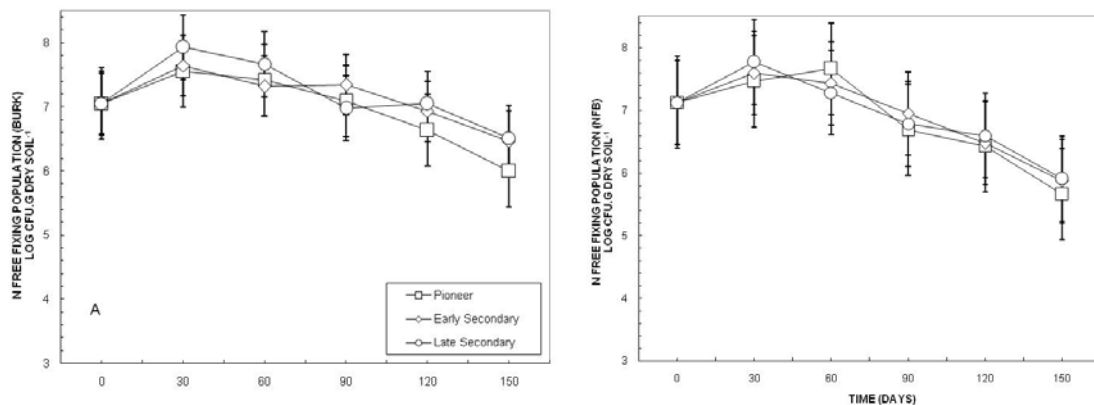


Figura 3. Crescimento dos grupos funcionais de microrganismos do ciclo do Nitrogênio (log UFC.g⁻¹ solo) na rizosfera de diferentes grupos sucessionais de plantas (pioneira, secundária inicial e secundária tardia)

Nas comunidades de microrganismos fixadores de nitrogênio tanto os que utilizam como fonte de carbono malato (Nfb) e os que utilizam como fonte de carbono a glicose (Burk), a diminuição das suas populações pode estar relacionada a imobilização do carbono devido ao metabolismo da planta e a baixa fertilidade do solo. Entretanto outro fator poderia estar influenciando no declínio destas comunidades, como a interação simbiótica com os fungos micorrizicos arbusculares (FMA), que poderiam estar competindo na imobilização do carbono disponível na rizosfera.

As interrelação entre os grupos funcionais de microrganismos são altamente positivas e complexas, com espécies individuais que confiam na presença, função, e interação de muitas outras espécies. Então, mudanças quantitativas e qualitativas na composição de terra comunidades microbianas podem servir como indicadores importantes e sensíveis de mudanças curtas e a longo prazo em saúde de terra (Hill, et al., 2000).

CONCLUSÃO

A análise das comunidades microbianas do solo não só deveriam envolver determinações de biomassa microbiana e diversidade, mas também determinações de crescimento microbiano, distribuição, função, e, se possível, a natureza de interações entre espécies. Uma importante correlação positiva foi observada na rizosfera dos diferentes grupos sucessionais de plantas, principalmente nas espécies pioneiras, entre as comunidades microbianas que

participam dos diferentes ciclos biogeoquímicos. Este grupo de planta cresce em condições desfavoráveis como solos degradados, com baixa fertilidade e ácido, e apresentam um crescimento muito rápido, reforçando a dependência destas plantas com as comunidades funcionais de microrganismos para o suprimento de nutrientes.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, G., 1995. Interacion de rizobacteria fijadoras de N₂ no simbióticas con hongos micorrízicos em la rizosfera de plantas de maíz crescidas em minirrizotrón. **Tesis de doctoral**. Universidad de Granada, Espanha. 117p.
- ANDRADE, G., 1999. Interacciones microbianas en la rizosfera. In: J.O. Siqueira, F.M.S. Moreira, A.S. Lopes, L.R. Guilherme, V. Faquin, A.E. Furtini and J.G. Carvalho (Editors). **Soil Fertility Soil biology and Plant Nutrition Interrelationships**. Brazilian Soil Science Society/ Federal University of Lavras/ Soil Science Department (SBSC/UFLA/DCS). Lavras, Brasil.
- BOTTOMLEY, P.J., 1992. Ecology of Bradyrhizobium and Rhizobiu. In: Stacey, G., Burris, R.H., Evans, H.J. (Eds). **Biological nitrogen fixation**. New York: Chapman and Hall. Pp. 293-348.
- CARDOSO, E.J.B.N. e FREITAS, S.S., 1992. A rizosfera. In: **Microbiologia do solo**. E.J.B.N. Cardoso, S.M. Tsai and M.C.P. Neves (Editors). Sociedade Brasileira de Ciências do Solo. Campinas, São Paulo, p.41-57.
- GANDOLFI, S., LEITÃO FILHO, H. F. e BEZERRA, C. L. F., 1995. Levantamento florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo arbóreas de uma floresta mesófila semidecídua no município de Guarulhos. SP. **Revista Brasileira de Biologia**. 55:753-767.
- HILL, G.T., MITKOWSKI, N.A., ALDRICH-WOLFE, L., EMELE, L.R., JURKONIE, D.D., FICKE, A., MALDONADO-RAMIREZ, R., LYNCH, S.T. e NELSON, E.B., 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. **Appl. Soil Ecology**. 15, 25-36.
- NÜSSLEIN, K., e TIEDJE, J.M., 1999. Soil bacterial community shift correlated with change from forest to pasture vegetation in a tropical soil. **Appl. Environ. Microbiol.** 65, 3622-3626.
- PERRY, D.L., MOLINA, R. e AMARANTHUS, M.P., 1987. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs. **Can. J. For. Res.**, 17:929-940.
- VICTÓRIA, R.L.; PICCOLO, M.C. e VARGAS, A.A.T., 1992. O ciclo do nitrogênio. In: **Microbiologia do solo**. E.J.B.N. Cardoso, S.M. Tsai and M.C.P. Neves (Editors) Sociedade Brasileira de Ciências do Solo. Campinas, São Paulo, p. 103-119.
- ZUBERER, D. A., 1994. Recovery and enumeration of viable bacteria. In: **Methods of Soil Analysis. Part 2**. Microbiological and biochemical properties. American Society of Agronomy. Pp119-144. Madison, WI.