



Microbiologia de Solo e Sedimento

ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ ATMOSFÉRICO: EFEITOS NA BRUSONE E COMUNIDADE BACTERIANA ASSOCIADA AO ARROZ

MARINA M. GORIA^{*1}, FERNANDO D. ANDREOTE², RAQUEL GHINI²

^{*1}Departamento de Proteção de Plantas, Unesp-FCA/Botucatu, SP, ²Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil. E-mail: marinagr@uol.com.br

INTRODUÇÃO

A concentração de dióxido de carbono (CO₂) está aumentando significativamente desde a Revolução Industrial, devido às atividades antrópicas. De 1960 a 2005, a taxa média anual de aumento foi de 1,4 ppm. No entanto, este aumento se intensificou nos últimos anos, com valores de 1,9 ppm de 1995 a 2005 (IPCC, 2007).

Em plantas, o aumento da concentração atmosférica de CO₂ causa elevação nas taxas fotossintéticas e maior produtividade. A relação carbono:nitrogênio (C:N) nas raízes e nas folhas tende a aumentar, levando a alterações nos compostos orgânicos do solo (COTRUFO et al., 1998), podendo alterar diretamente a microbiota, benéfica ou patogênica, associada às plantas.

A cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) é de grande importância social e econômica para o mundo, servindo como base alimentar para dois terços da população do planeta. A crescente demanda por este alimento remete a pesquisas constantes, visto que esta cultura é afetada por muitas doenças durante seu ciclo de produção, como a brusone [*Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (= *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr.)], que causa perdas consideráveis na produção (FARIA & PRABHU, 1980).

Os microrganismos não patogênicos podem desempenhar importante papel na promoção do crescimento vegetal como, por exemplo, por meio da fixação biológica do nitrogênio atmosférico. No entanto, pouco se sabe a respeito das interações entre plantas e microrganismos, patogênicos ou não, sob condições elevadas de CO₂ no ambiente.

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do aumento na concentração de CO₂ atmosférico sobre a incidência e severidade de brusone e sobre a comunidade bacteriana associada às plantas de arroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalação e condução do experimento. O estudo foi conduzido em campo localizado na Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna/SP). Estufas de topo aberto, circulares, com e sem injeção de CO₂, foram instaladas no campo experimental e monitoradas quanto às variáveis climáticas. O experimento foi realizado com três repetições contendo os seguintes tratamentos: sem estufa de topo aberto (Test), com estufa sem injeção de CO₂ (Est) e com estufa com injeção de CO₂ (Est + CO₂). A injeção de CO₂ foi programada para variar entre 100 a 300 µmol/mol acima da concentração atmosférica atual (379 µmol/mol CO₂) (IPCC, 2007). As amostras de ar foram avaliadas quanto à concentração do gás com uso de um IRGA (Infrared Gas Analyzer, modelo WMA-4 da PP System). Nestes locais, foram plantadas sementes de arroz (var. Shao Tiao Tsao) suscetível à brusone, com parcelas experimentais constituídas por 10 linhas com aproximadamente 60 sementes/linha em sistema de cultivo de sequeiro.

Avaliação da ocorrência e severidade de brusone. A brusone foi avaliada com base no número de lesões não esporulativas e esporulativas por folha e severidade. Para a determinação do



Microbiologia de Solo e Sedimento

número de lesões foram utilizados os perfis principais de cinco a quinze plantas. A severidade, expressa em porcentagem de área foliar afetada, foi determinada nas folhas superiores completamente abertas. A metodologia de avaliação baseou-se em escalas de notas para área afetada e tipo de lesão predominante (IRRI, 2000).

Desprendimento de CO₂. Após 7 semanas de cultivo, amostras de solo (100 g) foram incubadas por 17 dias e avaliadas segundo o método descrito por GRISI (1978), para a determinação da quantidade total de CO₂ desprendido.

Bactérias fixadoras de nitrogênio. Amostras (10g) de raízes de dez plantas por parcela foram lavadas e submetidas à desinfestação superficial (etanol 70% por 90 s, hipoclorito de sódio (2% cloro ativo) por 3 min, etanol 70% por 45 s e três lavagens em água destilada esterilizada). As amostras foram trituradas, diluídas e inoculadas em meio de cultivo JNFb, para determinar o número mais provável (NMP), utilizando-se a Tabela de McCrady (DÖBEREINER et al., 1995).

Análise dos dados. Os dados obtidos foram conjuntamente submetidos à análise de componentes principais (PCA) de variância, para determinar quais os fatores mais importantes na separação das amostras de cada tratamento.

Avaliação da diversidade bacteriana do solo e do filoplano de maneira independente de cultivo. O DNA total contido nas amostras de 0,5g de solo e na superfície de três folhas foi extraído e o perfil da composição total da comunidade bacteriana (cultiváveis e não cultiváveis) foi avaliado por meio da amplificação parcial do gene 16S RNAr, feita por meio de *nested* PCR, sendo a primeira PCR realizada com o *primer* 799 em combinação com o *primer* 1492, com a finalidade de inibir a amplificação do gene 16S RNAr presente no DNA cloroplastidial das plantas (CHELIUS & TRIPLETT, 2001). A análise em DGGE foi realizada no aparelho *PhorU2 system* (Ingeny, Goes, Holanda), com gradiente desnaturante variando de 45 a 65% de desnaturação.

RESULTADOS

Os tratamentos com injeção automatizada do gás apresentaram concentração média de 531,9 ppm de CO₂, enquanto as parcelas sem estufa atingiram 459,4 ppm e com estufa sem injeção, 490,1 ppm (Figura 1a).

O aumento na concentração de CO₂ mostrou ter efeito sobre os parâmetros avaliados, alterando a ocorrência de brusone e a comunidade bacteriana associada à planta. É possível observar na PCA que os principais parâmetros afetados pelos tratamentos são a ocorrência e a severidade de brusone (Figura 1b), evidenciada pela relação destes fatores com o eixo x do gráfico. No entanto, esta separação é mais evidente entre as amostras de estufa com e sem injeção de CO₂. Os outros fatores, ocorrência de bactérias fixadoras de N e a respiração do solo (liberação de CO₂), mostraram ser secundários na resposta às diversas condições atmosféricas (Figura 1b). A ocorrência de fixadoras de N foi maior em amostras Est+CO₂.

A análise de DGGE mostrou ainda que a comunidade bacteriana associada às plantas de arroz varia de acordo com os tratamentos, sendo possível observar uma correlação parcial entre os perfis obtidos, tanto nas amostras de solo como de filoplano (Figura 1c). Esta correlação parcial se deve ao fato de outras variáveis não representadas pelos tratamentos também influenciarem a composição das comunidades bacterianas no ambiente.



Microbiologia de Solo e Sedimento

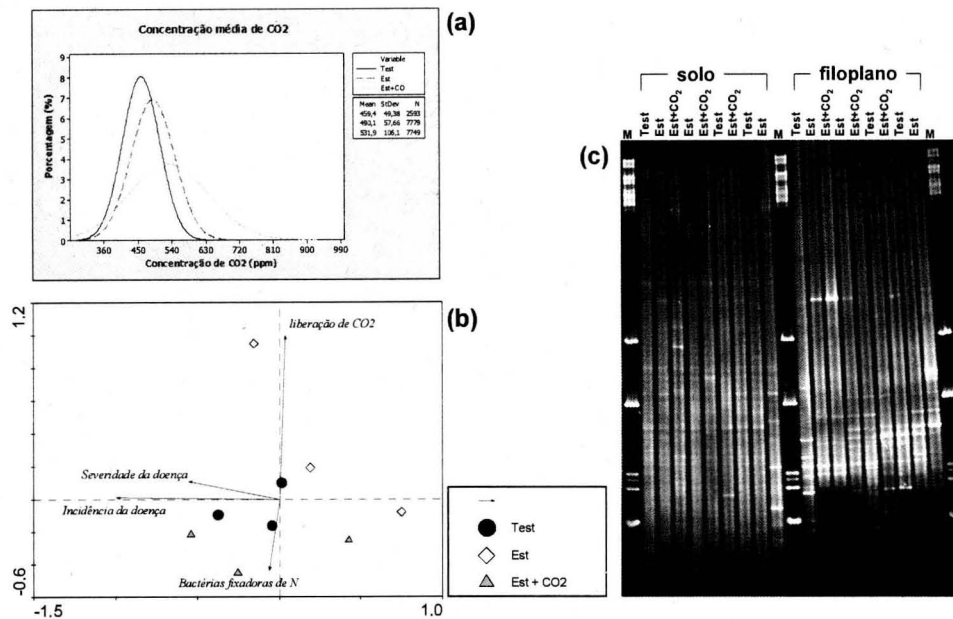


Figura 1. Concentração de CO₂ durante o cultivo do arroz sob os três diferentes tratamentos (a); análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros avaliados (b); perfil da comunidade bacteriana do solo e do filoplano por DGGE (c).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHELIUS M.K.; TRIPLETT, E.W. The diversity of archaea and bacteria in association with the roots of *Zea mays* L. **Microbial Ecology**, v. 41, p.252-263, 2001.
- COTRUFO, M.F; BRIONES, M.J.I.; INESON, P. Elevated CO₂ affects field decomposition rate and palatability of tree leaf litter: importance of changes in substrate quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v.30, p.1565-1571, 1998.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília: EMBRAPA- SPI: Itaguaí, RJ: EMBRAPA-CNPAB, 60p., 1995.
- FARIA, J.C., PRABHU, A.S. A screening technique to evaluate resistance of rice to *Rhynchosporium oryzae*. **Plant disease** 64: 845-846, 1980.
- GRISI, B.M. Método químico da medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e Cultura**, v. 30, n.1, p. 82-88, 1978.
- HODGE, A.; PATERSON, E.; GRAYSTON, S.J.; CAMPBELL, C.D.; ORD, B.G.; KILLHAM, K. Characterisation and microbial utilisation of exudate material from the rhizosphere of *Lolium perenne* grown under CO₂ enrichment. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, p.1033-1043, 1998.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC) Intergovernmental Panel on Climate Change, 4th Assessment – **Working Group I, II and III – Report for Policy Makers**. Cambridge: Cambridge University press, 2007.
- IRRI. Rice Almanac 3rd edition. **International Rice Research Institute**, Los Baños, Philippines, 2000. 56p.