

## ATIVIDADE ENZIMÁTICA E DIVERSIDADE FUNCIONAL DA MICROBIOTA DE CINCO ECOSISTEMAS EM UM SOLO DE CERRADO

Miriam Kaori Utida<sup>(1)</sup>; Giselle Gomes Monteiro<sup>(2)</sup>; Maria Rita Scotti<sup>(1)</sup>; Nadja M. H. de Sá<sup>(1)</sup>; Antônio Carlos de Oliveira<sup>(3)</sup>; Ivanildo Evódio Marriel<sup>(3)</sup>. <sup>(1)</sup>UFMG, ICB, Departamento de Botânica, 31270-901-Belo Horizonte-MG, Brasil; <sup>(2)</sup>Izabela Hendrix, Belo Horizonte, MG; <sup>(3)</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil; E-mail: imarriel@cnpms.embrapa.br

O relacionamento entre a diversidade microbiana do solo e a função de determinado ecossistema ainda é pouco conhecido, particularmente no cerrado. Parâmetros indicativos da influência da cobertura vegetal ou do manejo sobre a sustentabilidade de agroecossistemas são desejáveis, principalmente, quando permitem a detecção de mudanças a curto prazo.

A urease é uma enzima produzida por microrganismos e plantas, mas sua maior parte no solo é proveniente da microbiota. Resultados de pesquisa mostram correlação positiva e significativa entre a atividade da urease e biomassa microbiana (Klose & Tabatabai, 1999). A arginase catalisa a degradação da arginina no solo, liberando NH<sub>4</sub> que é imobilizada pela comunidade microbiana ativa (Owen & Jones, 2001), ou excretado na solução do solo. Esse processo tem sido utilizado como medida do N potencialmente mineralizável do solo.

O sistema Biolog fornece informações sobre a diversidade funcional dos microrganismos, uma vez que a utilização de carbono disponível constitui um fator chave que modula o crescimento microbiano no solo (Garland & Mills, 1991; Insan & Rangger, 1997), além de ser uma técnica simples e rápida. A incubação direta de amostras nas placas Biolog, com diferentes fontes de carbono, pode produzir um padrão de respostas metabólicas específico, gerando dados úteis para estudos de ecologia microbiana.

Com o objetivo de ampliar o conhecimento sobre a atividade da microbiota sob diferentes coberturas vegetal e sua relação com a função de ecossistemas foram estudados cinco sítios, através da atividade de duas enzimas relacionadas ao ciclo do N e da diversidade funcional microbiana.

As amostras, de um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, cerrado, Sete Lagoas, MG, foram coletadas em quatro profundidades (0-10, 10-20, 20-40 e 40-80 cm), em duas épocas (abril/2003 e fevereiro/2004), dos seguintes ecossistemas: cerrado natural, floresta de eucalipto e floresta de pinus, com mais de 30 anos, plantio direto e plantio convencional.

A atividade da urease foi avaliada pelo método proposto por Kandeler e Gerber (1988), e a da arginase foi determinada de acordo com Alef e Kleiner (1986). Nos dois casos, o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> liberado foi determinado por colorimetria. A diversidade funcional microbiana do solo foi determinada de acordo com Zak et al. (1994), com modificações. Uma alíquota de 120

microlitros de suspensão diluída (102) obtida a partir de cada amostra foi transferida para cada cavidade da placa ECOPLATE® (Biolog, Inc. HAYWARD; A; USA), que contém três grupos iguais de 31 substratos diferentes (três repetições/placa). Após os períodos de incubação de 72 e 96 h, a cor desenvolvida foi medida em um leitor de placas elisa, a 405 nm, e usada para se estimar a diversidade funcional através dos índices: atividade total (AT), riqueza de substrato(S), índice de diversidade de Shannon(H) e Equidade (E).

Os resultados para a urease, nos dois anos, mostraram diferenças significativas entre os diferentes sítios e profundidades, sendo observada atividade mais elevada nas camadas de 0-10 cm. Com relação aos ecossistemas, observou-se maior atividade no cerrado natural, seguido do eucalipto, pinus e plantio direto, que não diferiram entre si. Menor atividade ocorreu no plantio convencional (Figura. 1).

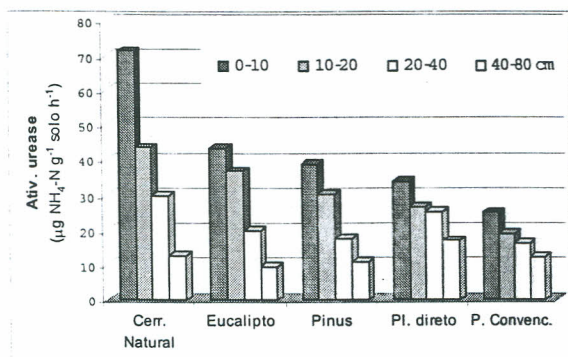


Figura 1. Atividade da urease no solo de seis sítios, ano de 2003.

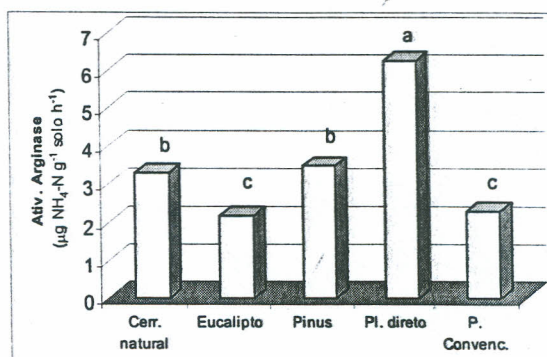


Figura 2. Atividades da arginase no solo de seis sítios. Valores médios de quatro profundidades, ano de 2003.

Quanto a arginase, observaram-se diferenças significativas entre os ecossistemas (Figura 2) e no perfil do solo, sendo a interação entre esses fatores não significativa. Dentre os ecossistemas, maior atividade dessa enzima foi detectada no plantio direto, seguido do cerrado natural e pinus, que não diferiram entre si. As menores atividades foram observadas no plantio convencional e eucalipto (Figura 2). No ano de 2004, detectou-se diferença significativa apenas entre profundidades. Sabe-se que em ambiente com alta relação C/N, com compostos orgânicos de fácil degradação, a arginina acaba sendo consumida como fonte de N no solo (Dashaman & Stotzky, 1986; Owen & Jones, 2001) e, conseqüentemente, sua atividade decresce, podendo tornar-se nula. Por outro lado, em ambiente com suprimento adequado de substratos, o que parece ocorrer sob plantio direto, seu nível de atividade torna-se mais elevada, uma vez que a atividade dessa enzima depende da população ativa do solo.

Em relação às variáveis estimadas através das placas Biolog (AT, H, S, E), foram analisadas somente as amostras coletadas em 0-10 e 40-80 cm de profundidade, nos dois anos.

Detectou-se diferença significativa para os quatro parâmetros avaliados, nos dois anos. A interação cobertura x profundidade foi não significativa. As camadas superficiais apresentam, em geral, maior quantidade e variedade de substrato, o que explica os valores mais elevados observados nessa camada, independente dos parâmetros estudados.

A atividade total, soma dos valores positivos na placa, indica o uso potencial de fontes de carbono disponível pela comunidade microbiana. Na média dos dois anos, os sítios que apresentaram maiores atividades foram plantio direto e cerrado natural, enquanto a menor atividade foi observada sob eucalipto (Figura 3). Resultados similares foram observados

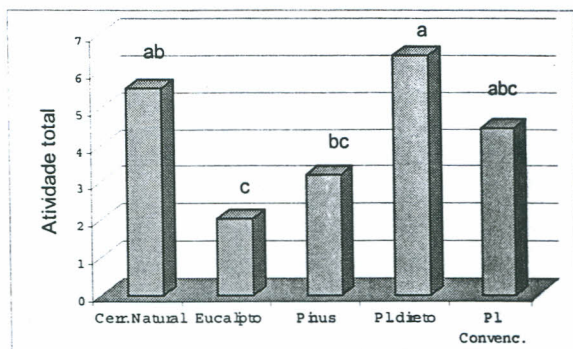


Figura 3. Atividades Total, absorvância medida na placa Ecoplate, das amostras cinco ecossistemas. Médias de dois anos.

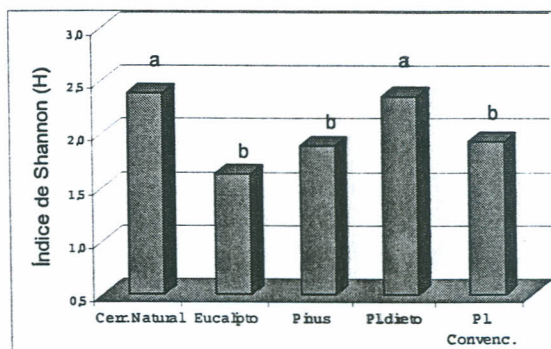


Figura 4. Índice de Shannon (H) em amostras de solo de cinco ecossistemas. Médias de dois anos.

para o índice de diversidade (Figura 4), indicando maior fluxo de carbono nestes ecossistemas. Para riqueza de substrato que reflete, até certo ponto, o número de espécies encontrada no ambiente, encontrou-se diferença significativa apenas entre profundidades, com maior número de substratos utilizados a 0-10 cm. Em relação à equidade, em 2003, detectou-se diferença significativa para profundidade e ecossistemas, observando-se maior a uniformidade na distribuição dos substratos utilizados nos ambientes que apresentaram maior índice de diversidade (H), plantio direto e cerrado natural. No ano de 2004, não houve diferenças entre os ambientes para essa variável.

Alternativamente, os dados provenientes das placas Biolog podem ser explorados através de análise multivariadas, utilizando-se os valores de atividade de cada cavidade. A figura 5 mostra que, com base nos resultados da análise de componentes principais, a posição relativa dos perfis metabólicos variou com a cobertura vegetal. Esta observação pode ser explicada, em parte, pela composição distinta das diferentes comunidades microbianas nos ecossistemas testados, exceto para o plantio convencional e pinus. Essas variações na estrutura da comunidade microbiana podem afetar processos dos ecossistemas envolvidos na ciclagem de nutrientes e supressão de patógenos, dentre outros. Esses resultados demonstram uma vantagem importante do sistema Biolog, em relação a outros métodos visando

caracterizar comunidades microbianas, que é focar sobre o funcionamento da comunidade alvo, tornando-se relevante para a compreensão da função dos ecossistemas.

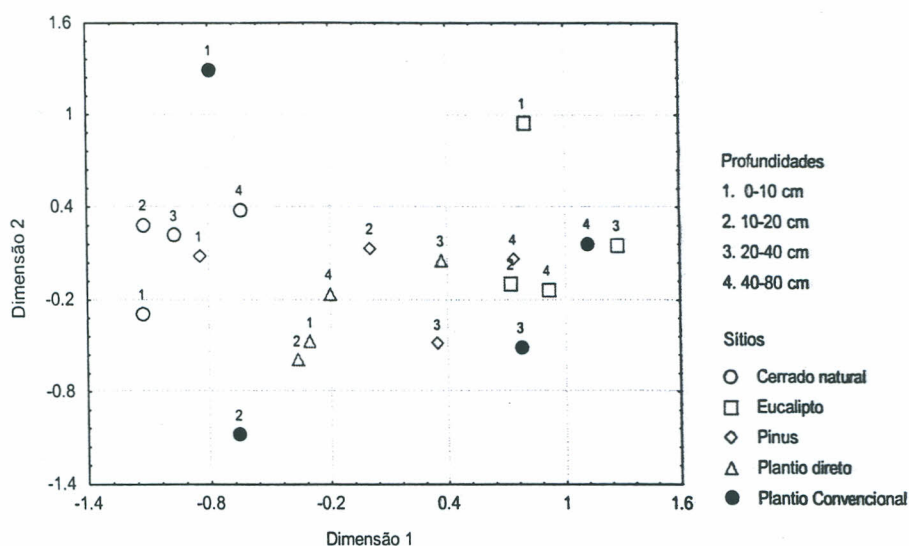


Figura 5. Análise bidimensional da atividade total dos microrganismos através dos componentes principais (PCA) em função do sítio e da profundidade (1. 0-10; 2. 10-20; 3. 20-40; 4. 40-80 cm), dados de 2003.

Pode-se concluir que: (i) houve maior atividade da urease nos solos sob cerrado natural, enquanto a atividade da arginase foi superior sob plantio direto, em relação aos demais sítios; (ii) a diversidade funcional microbiana foi similar sob cerrado natural e plantio direto e superior aos demais, eucalipto, pinus e plantio convencional, independente das variáveis estimadas (iii) a análise de PCA indicou que os ecossistemas avaliados apresentam estruturas de comunidades bacterianas distintas e, (iv) o sistema biológico mostrou-se uma técnica rápida e eficiente para comparação de comunidades microbianas.

#### Literatura citada

- ALEF, K and KLEINER, D.. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potentials in soils. *Soil Biol. Biochem.*, v.13 n°2: 233-235,1986.
- DASHAMAN, T.; STOTZKY, G. Microbial utilization of amino-acids and a peptides bound on homoionic and kaolinite. *Soil Biol. Biochem.*, 18: 5-14. 1993.
- GALLAND, J.A., MILLS, A.L.. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, no. 8, 2351-2359p., 1991
- INSAN, H. & RANGGER, A. 1997. *Microbial communities: functional versus structural approaches*. Springer-Verlag
- KANDELER, E.; GERBER, H. Short term assay of soil urease activity using colorimetric determination ammonium. *Biol. Fertil. Soils*, 6:68-72, 1988.
- KLOSE, S.; TABATABAI, M.A. Urease activity of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 31:205-211, 1999.
- OWEN, A.G. and JONES, D.L.. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biol. and Biochem.* 33: 651-657, 2001.
- ZAK, J.C.; WILLIG, M.R.; MOORHEAD, D.L.; WILDMAN, H.G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.*, 26:1101-1108, 1994.