

IMPACTO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO DO AR SOBRE A COMUNIDADE MICROBIANA DA RIZOSFERA DE MUDAS DE EUCALIPTO

MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS¹, RAQUEL GHINI²

¹ Doutorando, UNESP/FCA, Botucatu-SP, mialegal@hotmail.com

² Pesquisadora, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, raquel@cnpmma.embrapa.br

RESUMO: O aumento significativo da concentração de dióxido de carbono atmosférico, em decorrência das atividades antrópicas, pode provocar modificações na morfologia e fisiologia das plantas e no ciclo dos patógenos, hospedeiros e antagonistas. Estufas de topo aberto (“open-top chambers”, OTC) foram utilizadas para verificar o impacto do aumento da concentração de CO₂ do ar sobre a comunidade microbiana da rizosfera de mudas de eucalipto. Mudas cultivadas em OTCs com injeção de CO₂ puro até atingir a concentração de 550 μmol mol⁻¹ (tratamento E+CO₂) foram comparadas com mudas em OTCs sem injeção de CO₂ (tratamento E) e em parcelas sem a estufa (tratamento T), em três repetições. Após 30 dias do plantio, amostras compostas de 10g de solo da rizosfera de 5 plantas escolhidas aleatoriamente foram colhidas. Depois foram feitas três diluições para cada amostra: 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, com três repetições cada. Alíquotas das suspensões obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura BDA e NA. A obtenção de colônias de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. foi maior para os tratamentos (T) e (E), diferindo significativamente do tratamento (E+CO₂). Os resultados demonstram que o aumento de CO₂ atmosférico pode causar alterações na comunidade microbiana da rizosfera.

PALAVRAS-CHAVE: CO₂, controle biológico, antagonistas.

INTRODUÇÃO

A partir da Revolução Industrial, a concentração de CO₂ na atmosfera aumentou aproximadamente 30%, proveniente da queima de combustíveis fósseis e modificações no uso do solo. A concentração desse gás deve se aproximar a 1000 μmol mol⁻¹ em um cenário futuro, caso nenhuma mudança aconteça nas atividades humanas (IPCC, 2007). O CO₂ em elevada concentração pode originar alterações no metabolismo, crescimento e processos fisiológicos das plantas. Na maioria das vezes, essas alterações derivam em benefícios para o desenvolvimento das plantas. Muitos autores verificaram as mesmas conclusões com diferentes culturas, ecossistemas naturais e espécies florestais (GHINI et al., 2008).

O gênero *Eucalyptus* pertence à família *Myrtaceae*, exibe uma vasta plasticidade e dispersão mundial, desenvolvendo-se em diferentes situações edafoclimáticas (SANTOS et al., 2001). No Brasil, a cultura aumentou de modo significativo em todo território, nos últimos anos. Em 2008, a área cultivada foi de 4.258.704 ha, em 2009 foi de 4.516.730 ha, sendo que em 2010 foi de 4.754.334 ha. Minas Gerais é o maior produtor da cultura, respondendo por 29,4% do total cultivado, seguido por São Paulo, com 22%, e Bahia, com 13,3%. Constata-se crescimento de 5,3% na área plantada com eucalipto em 2010, em relação a 2009 (ABRAF, 2011). Com essa expansão ocorre também o aumento de doenças que diminuem a produtividade dessa cultura. Assim, se torna imprescindível o estudo do aumento da concentração do CO₂ do ar no ciclo dessas doenças e a interação de microrganismos com a planta que podem favorecer ou não o desenvolvimento de doenças.

As modificações na planta provocadas pelo aumento do dióxido de carbono podem causar um efeito negativo, positivo ou neutro na incidência e severidade de doenças de plantas. Assim o manejo das doenças também pode ser comprometido devido às alterações na microbiota, distribuição geográfica e interação com outros microrganismos que interagem com as plantas. Ainda são poucos os relatos sobre os impactos do CO₂ sobre o ciclo das doenças de plantas, desse modo faz-se necessária a realização de estudos relacionados ao assunto.

A microbiota do solo é uma importante ferramenta no controle biológico natural de doenças. Os microrganismos têm sido cada vez mais associados à qualidade ambiental, tanto por seu papel fundamental na manutenção dos ecossistemas como por sua sensibilidade a variações nos muitos fatores que compõem os ambientes (SILVEIRA; FREITAS, 2007). As interações microbianas podem naturalmente em alguns solos prevenir ou inibir o estabelecimento de um patógeno e suas atividades (GHINI ; LEONI, 2005). Por isso, o presente trabalho teve por objetivo verificar os efeitos do aumento de CO₂ do ar sobre a microbiota da rizosfera de plantas de eucalipto.

MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar o efeito do CO₂ sobre a microbiota da rizosfera foram usadas estufas de topo aberto (“open-top chambers”, OTC), com 1,9 m de diâmetro e 2 m de altura, equipadas com um redutor de abertura do topo para deflexionar o ar e prevenir a diluição da concentração desejada de CO₂ dentro da estufa (Figura 1). As OTCs foram construídas com estrutura de tubo de ferro fosfatizado esmaltado (1 cm de diâmetro e 1,2 mm de espessura de parede) e laterais de filme de polietileno transparente, espessura de 150 µm, com tratamento contra raios ultravioleta. Tubos (5 mm de diâmetro) enterrados na profundidade de 15 cm, com a extremidade instalada no centro das parcelas na altura de 50 cm do solo, conduziram as amostras de ar para análise. O monitoramento da concentração de CO₂ foi efetuado com o auxílio de um analisador infravermelho de gás, que forneceu as informações para um multiplexador de corrente que regulou a abertura de válvulas para injeção de CO₂ na estufa (tratamento E+CO₂). O CO₂ puro foi injetado contra um ventilador para assegurar uma mistura adequada até a altura de 50 cm do solo. Estufas semelhantes à descrita, sem injeção de CO₂, foram utilizadas para comparações em condições de atmosfera atual (tratamento E). Além disso, parcelas sem a estufa (tratamento T) foram utilizadas como testemunha para verificar os efeitos da estrutura das OTCs.



FIGURA 1. Estufa de topo aberto

Amostras de ar de todas as parcelas dos tratamentos (E+CO₂) e (E), e uma parcela do tratamento (T) foram continuamente coletadas e analisadas em intervalos de 10 minutos. Além disso, dentro de uma parcela de cada tratamento foram instalados sensores de temperatura do ar, cujas informações também foram registradas em intervalos de 10 min. Os dados foram armazenados em um coletor de dados. O sistema de irrigação por gotejamento foi acionado manualmente, conforme as necessidades das plantas. Para cada tratamento (E+CO₂, E e T) foram feitas três repetições. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso.

As parcelas foram constituídas por 20 plantas do clone de eucalipto: um híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *E. camaldulensis* (VM 01). As mudas do híbrido VM 01 foram produzidas por mini estaquia, em tubetes contendo substrato à base de *Pinus*. Após 30 dias do plantio foram coletadas 10g de solo da rizosfera de cinco mudas de cada parcela. Posteriormente, foram obtidas três diluições para cada uma das nove parcelas: 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, com três repetições cada. Alíquotas das suspensões

obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura: NA para colônias bacterianas e BDA para seleção de fungos.

A avaliação da microbiota da rizosfera foi feita a partir da determinação de unidades formadoras de colônias (ufc) dos microrganismos encontrados em cada placa de Petri. As colônias das bactérias foram contadas após 48h do plaqueamento e as colônias dos fungos após uma semana. A altura das plantas também foi avaliada, sendo determinada a pela distância compreendida entre a superfície do solo e o ápice da haste principal da planta. Todas as plantas de cada parcela foram medidas.

Para fins de análise estatística, os valores observados para os microrganismos e altura de plantas, foram submetidos à análise de variância realizada no programa ASSISTAT BETA 7.6 BETA. Quando os tratamentos diferiram significativamente pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Os experimentos foram analisados em delineamento de blocos casualizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento da concentração de CO₂ do ar estimulou o crescimento das mudas de eucalipto. Houve diferença significativa entre os tratamentos (T) e (E), os quais não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1).

TABELA 1. Altura dos clones de VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) cultivados em estufas de topo aberto com (E+CO₂) ou sem (E) injeção de CO₂ e sem estufa (T).

Tratamentos	Altura (cm)
T	1,85 b
E	1,87 b
E+CO ₂	4,06 a

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.

A fotossíntese, geralmente, é estimulada quando a planta é exposta a altas concentrações de CO₂. A elevação do CO₂ reduz a condutância estomática e a transpiração melhorando a eficiência do uso da água e, ao mesmo tempo, estimula altas taxas de fotossíntese e aumenta a eficiência no uso da luz. Possivelmente, a alteração nesses processos influenciou o aumento de altura das mudas do ensaio quando submetidas a altas concentrações de CO₂. Assim como no presente estudo, Driscoll et al., (2006) verificaram que as plantas de milho quando expostas as altas concentrações de CO₂ apresentavam maior crescimento do que as plantas em concentração ambiente. Resultados semelhantes também foram obtidos por Santos (2011) e MacLeod (2012). Esses autores também verificaram redução da severidade de *Ceratocystis fimbriata* e *Puccinia psidii*, respectivamente, em mudas de eucalipto, com o aumento da concentração de CO₂ do ar.

A comunidade de *Bacillus* spp. foi maior para nos tratamentos (T) e (E), diferindo significativamente do tratamento (E+CO₂). No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos (T) e (E) (Figura 2). Sendo assim, o aumento de CO₂ do ar influenciou na comunidade microbiana da rizosfera das mudas de eucalipto.

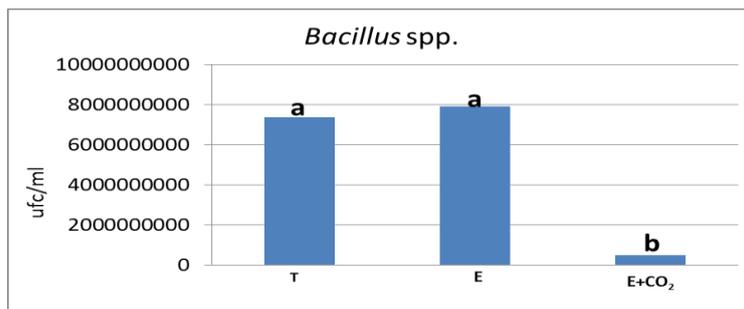


FIGURA 2. Unidades formadoras de colônias (ufc) de *Bacillus* spp. encontradas nas rizosfera de clones VM01 cultivados em estufas de topo aberto com (E+CO₂) ou sem (E) injeção de CO₂ e sem estufa (T). Média de três repetições. Letras iguais indicam que os contrastes não foram significativos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A comunidade de *Trichoderma* spp. foi maior nos tratamento (T) e (E), diferindo significativamente do tratamento (E+CO₂) (Figura 3). Mostrando que o aumento de CO₂ do ar pode ter inibido a comunidade do fungo *Trichoderma* sp.

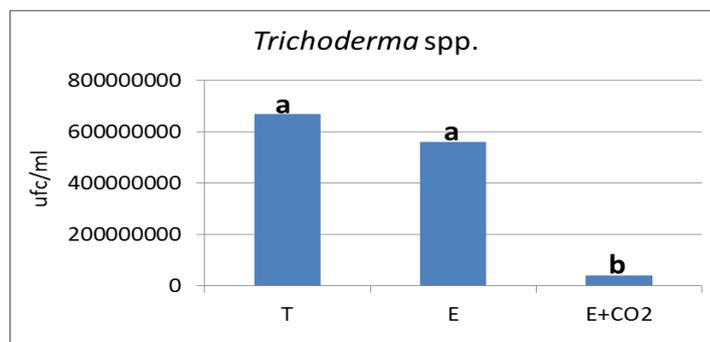


FIGURA 3. Unidades formadoras de colônias (UFC) de *Trichoderma* spp. da rizosfera de clones VM01 cultivados em estufas de topo aberto com (E+CO₂) ou sem (E) injeção de CO₂ e sem estufa (T). Média de três repetições. Letras iguais indicam que os contrastes não foram significativos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Bacillus e *Trichoderma* são grandes aliados do controle biológico inibindo atividade de muitos fitopatógenos que são facilmente encontrados em solos. A inibição das suas comunidades pelo aumento da concentração de CO₂ torna as plantas mais suscetíveis ao ataque de doenças (GHINI; LEONI, 2005). Manning and Tiedemann (1995) indicam que o acréscimo das concentrações dos gases CO₂ e O₃ e da radiação ultravioleta altera as comunidades da microbiota da rizosfera e filosfera. As modificações na diversidade das plantas e, por conseguinte na comunidade microbiana podem mudar a incidência de doenças por meio do controle biológico natural (COAKLEY et al., 1999).

CONCLUSÕES

Mudanças na concentração de CO₂ atmosférico podem alterar a comunidade microbiana da rizosfera de mudas de *Eucalyptus* spp.

Para prever como os patossistemas agrícolas responderão às futuras condições climáticas, estudos adicionais são necessários e devem ser combinados com outros fatores de mudança do clima (por exemplo, temperaturas elevadas).

AGRADECIMENTOS

À empresa V&M Florestal, pela doação das mudas de eucalipto.

REFERÊNCIAS

- ABRAF – Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. Anuário Estatístico da ABRAF 2011 – Ano base 2010. Disponível em: <<http://www.abraflor.org.br/estatisticas/ABRAF11/ABRAF11-BR.pdf>>. Acesso em 18 de maio de 2011.
- COAKLEY, S.M.; SCHERM, H.; CHAKRABORTY, S. Climate change and plant disease management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, p. 399–426, 1999.
- DRISCOLL, S.P.; PRINS, A.; OLMOS, E.; KUNERT, K.J.; FOYER, C.H. Specification of adaxial and abaxial stomata, epidermal structure and photosynthesis to CO₂ enrichment in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 2, p. 381-390, 2006.
- GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. Climate change and plant diseases. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.65, p.98-107, 2008.
- GHINI, R.; LEONI, C. Uso de lodo de esgoto para indução de supressividade de solos a *Phytophthora nicotianae* em citros. Embrapa Meio Ambiente: Circular Técnica 10, Jaguariúna, 2005. 5p.
- MAC LEOD, R.E.O. Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono do ar sobre a ferrugem e o crescimento de mudas clonais de eucalipto. Botucatu, SP: UNESP (Dissertação de Mestrado). 2012. 62p.
- MANNING, W. J.; TIEDEMANN, A. V. Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO₂), ozone (O₃, and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 88, p. 219-245, 1995.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). **Climate Change 2007: The Physical Science Basis**. Cambridge University Press: Cambridge, 2007.
- SANTOS, M. S. Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono do ar sobre a murcha de *Ceratocystis* em mudas clonais de eucalipto. Botucatu, SP: UNESP (Dissertação de Mestrado). 2011. 53p.
- SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. **Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle**. Embrapa: Circular Técnica. Colombo, 2001.
- SILVEIRA, A.P.D. da; FREITAS, S. dos S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agrônomo, Campinas, 2007, 312p.