

DIVERSIDADE MICROBIANA NA RIZOSFERA DE HÍBRIDOS DE MILHO CONTRASTANTES NA EFICIÊNCIA PARA FÓSFORO SOB CONDIÇÕES CONTROLADAS

Edilson Carvalho Brasil⁽¹⁾, Vera Maria Carvalho Alves⁽²⁾, Ivanildo Evódio Marriel⁽²⁾, Christiane Abreu de Oliveira⁽²⁾; Janice Guedes de Carvalho⁽³⁾. ⁽¹⁾Embrapa Amazônia Oriental, 66.095-100, Belém – PA; ⁽²⁾Embrapa Milho-Sorgo, Rodovia MG 424, Km 65, 35.701-970, Sete Lagoas – MG; ⁽³⁾UFLA, Departamento de Ciência do Solo, 37.200-000, Lavras – MG.

A rizosfera é um microambiente caracterizado por mudanças dinâmicas, continuamente renovado ou afetado pelo crescimento das raízes e pela exsudação de substâncias, favorecendo diretamente a disponibilidade de nutrientes minerais e fornecendo indiretamente energia para a atividade microbiana. A grande variação de compostos orgânicos liberados pelas plantas tem sido considerada como um fator preponderante capaz de influenciar a diversidade de microorganismos na rizosfera de diferentes espécies de plantas. Efeitos benéficos sobre a aquisição de P e de alguns micronutrientes podem ser esperados pelas plantas, já que microorganismos da rizosfera podem usar açúcares de exsudatos de baixo peso molecular ou pedaços de células e de tecidos como fontes de carbono, para produção de quelatos ou ácidos orgânicos, que podem atuar de forma semelhante aos exsudatos de raiz (Marschner, 1995). Recentemente, a análise da atividade microbiana na rizosfera tem sido realizada através de respostas funcionais múltiplas da comunidade microbiana ou do perfil metabólico. O sistema “Biolog”, que usa diferentes fontes de carbono para produzir um perfil metabólico dos microorganismos, tem sido usado para avaliar a diversidade metabólica de comunidades microbianas em diferentes condições (Grayston & Campbell, 1996).

Objetivando avaliar a diversidade microbiana da rizosfera de híbridos de milho contrastantes na eficiência para P, em níveis suficientes e insuficientes do nutriente, conduziu-se um experimento utilizando-se amostra de um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, possuindo as seguintes características químicas: pH 5,2; H+Al=5,27 cmol_c dm⁻³; Al=0,25 cmol_c dm⁻³; Ca=2,29 cmol_c dm⁻³; Mg=0,36 cmol_c dm⁻³; K(Mehlich-1)=60 mg dm⁻³; P(Mehlich-1)=3 mg dm⁻³; M.O.=2,93 dag hg⁻¹. A correção da acidez foi efetuada pelo critério de saturação por bases, elevando-se o valor inicial para 50%. Realizou-se aplicação de adubação básica com nitrogênio, potássio e micronutrientes. Nos tratamentos correspondentes ao nível alto de fósforo, adicionou-se quantidade equivalente a uma adubação de 800 kg ha⁻¹ de P₂O₅. As amostras de solo foram acondicionadas em caixas de PVC (20 cm de largura; 2,5 cm de espessura; e 50 cm de altura), denominadas de rizobox, com um dos lados de maior dimensão removível, para facilitar o manuseio das plantas. Cada rizobox recebeu 2,2 dm³ de terra, constituindo a unidade experimental. O delineamento foi em blocos casualizados, com três repetições, em arranjo fatorial 5 x 2, correspondendo a 5 genótipos de milho combinados com dois

níveis de fósforo (baixo e alto). Foram utilizados híbridos provenientes do programa de melhoramento da Embrapa Milho-Sorgo. Os genótipos eficientes foram dois híbridos simples (HS1 e HS4) e um triplo (HT1) e os genótipos ineficientes foram dois híbridos simples (HS2 e HS3). Após a germinação, efetuou-se o transplântio de três plântulas para cada rizobox. Aos 18 dias do transplântio, as plântulas foram removidas dos rizoboxs e, após a retirada do excesso de terra, as partículas de solo aderidas às raízes foram coletadas para constituírem o solo rizosférico. Paralelamente, amostras de solo distante das raízes foram coletadas aleatoriamente nos rizoboxs, para constituírem o solo não rizosférico. A avaliação da diversidade metabólica foi realizada de acordo com Zak et al. (1994), em que suspensões de microorganismos da rizosfera de cada tratamento foram obtidas transferindo-se 5 g de amostra de solo para erlenmeyers contendo 45 mL de solução salina (0,85% de NaCl), agitando-se por 30 minutos. Coletaram-se 5 mL da suspensão e centrifugou-se a 4000 rpm durante 15 minutos, filtrando-se o sobrenadante. Transferiu-se 0,5 mL do filtrado para tubos de ensaio, contendo 4,5 mL da solução salina. Colocou-se 120 µL da suspensão de microorganismos em placas BIOLOG Ecoplate, contendo três repetições de um conjunto de 31 substratos, ficando em incubação por 120 horas. O desenvolvimento de cor foi medido utilizando-se espectrofotômetro no comprimento de onda de 405 nm. As leituras foram efetuadas às 24, 48, 72, 96 e 120 horas. A diversidade funcional microbiana foi avaliada através dos índices AWCD (média de desenvolvimento de cor dos substratos), Riqueza de substratos utilizados pela comunidade microbiana, Diversidade de substratos e Equivalência de substrato, descrito por Garland & Mills (1991) e Zak et al. (1994).

A análise de variância realizada às 72 horas de incubação mostrou que não houve efeito significativo entre os tratamentos testados, para todos os índices estimados. Apesar disso, os resultados de desenvolvimento de cor (expressos em AWCD) indicaram que os extratos microbianos da rizosfera dos híbridos HS3 e HS4 apresentaram soma de atividade maior que os demais, durante o período de incubação das amostras (Figura 1c). No entanto, o solo rizosférico do híbrido HS4 apresentou menor riqueza de substratos (Figura 1a), indicando que, apesar dos microorganismos utilizarem menor número substratos como fontes de carbono para seu metabolismo, houve intensa atividade metabólica através do uso dos substratos utilizados pelos microorganismos existentes na rizosfera desse genótipo. Esse aspecto pode ser confirmado pela Equivalência de substrato (Figura 1b), demonstrando que, em termos médios, os substratos utilizados pelos microorganismos da rizosfera do híbrido HS4 apresentaram maior atividade, após as 48 horas de incubação.

Verificou-se que a Atividade (AWCD), a Riqueza e a Equivalência de substrato (Figura 1d, 1e e 1f) dos tratamentos com baixo nível de P foram sempre maiores que os com alto-P, independente do

genótipo utilizado. Esses resultados indicam uma clara tendência de alteração do perfil metabólico microbiano na rizosfera dos genótipos de milho submetidos a baixos níveis desse nutriente, modificando a atividade e as fontes de carbono utilizadas pelos microorganismos. Um ponto que deve ser considerado para enfatizar essa tendência é que o período de crescimento das plantas foi de apenas 18 dias e que, para o caso do P, haveria necessidade de um tempo maior de cultivo para que as plantas pudessem promover alterações significativas na rizosfera, como forma de favorecer a absorção do nutriente.

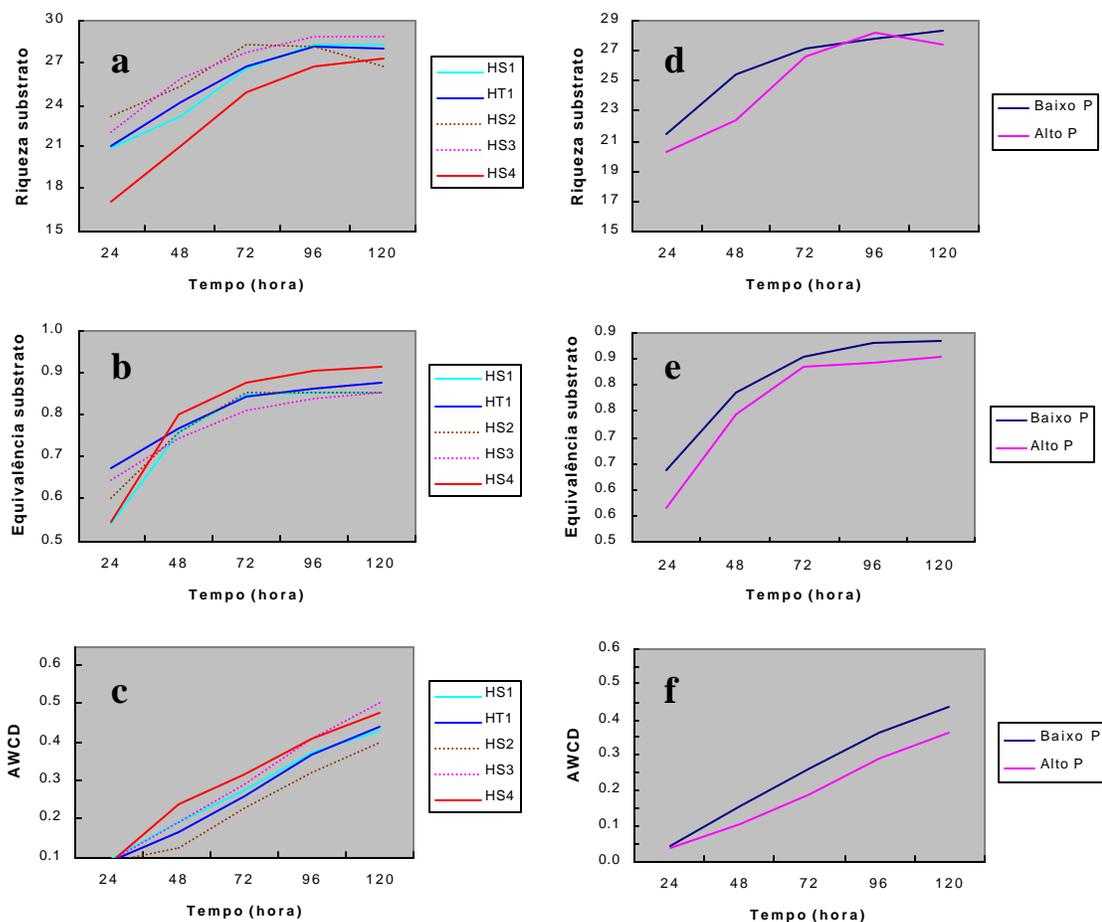


Figura 1. Índices de diversidade metabólica (Riqueza de substrato, Equivalência de substrato e AWCD) estimados a partir de extrato microbiano da rizosfera de genótipos de milho e nos níveis alto e baixo de P, incubado por 120 horas.

A relação composicional do perfil metabólico da rizosfera das plantas nos diferentes tratamentos é apresentada na figura 2. Os resultados do dendograma demonstram que podem ser separados dois grandes grupos principais de tratamentos com perfil metabólico distinto na utilização de substratos. Um grupo envolveu os tratamentos com híbridos eficientes (HS1, HS4 e HT1) em baixo nível de P e outro grupo que agregou híbridos eficientes (HS1 e HT1) e ineficientes (HS2 e HS3) em alto nível

de P. Esses resultados indicam que a atividade catabólica de substratos específicos pode ser determinada pelo nível de P na rizosfera de plantas de milho, independente do genótipo utilizado.

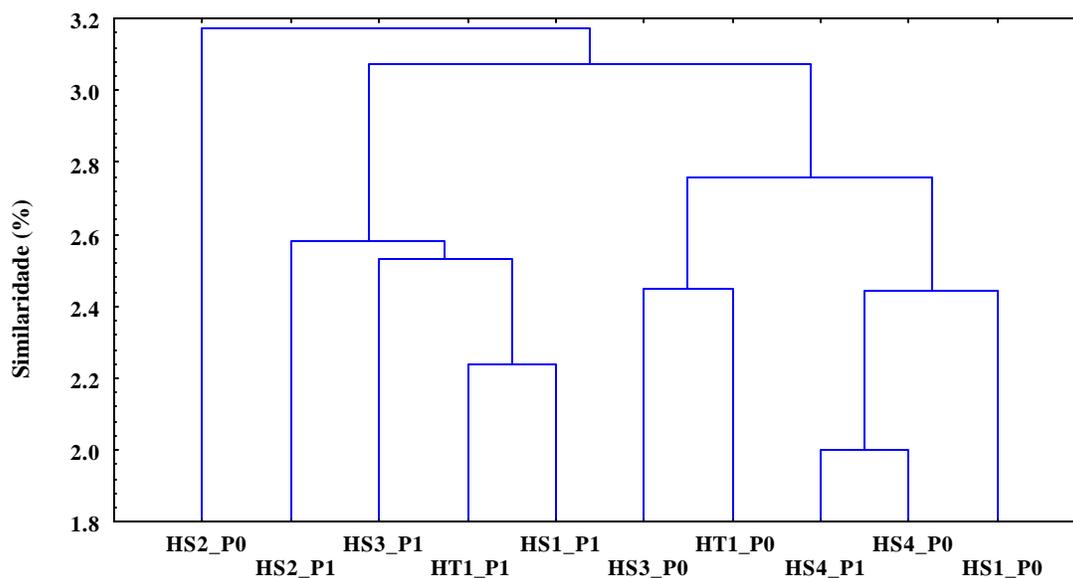


Figura 2. Análise de agrupamento (Cluster) baseado na presença e ausência de substratos utilizados (72 horas de incubação) pelo extrato microbiano obtido da rizosfera de genótipos de milho crescidos em dois níveis de P (P0=baixo e P1=alto). Utilizou-se a regra de combinação UPGMA e distancia Euclidiana.

Dentro do primeiro grande grupo os principais substratos discriminantes, encontraram-se nas categorias estruturais de aminoácidos, carboidratos, ácidos carboxílicos e polímeros, sendo responsáveis pela maioria da atividade padrão global observada para os tratamentos desse grupo. No segundo grande grupo a discriminação foi baseada principalmente nas categorias de carboidratos, aminoácidos e ácidos carboxílicos.

Literatura citada:

- GARLAND, J.L.; MILLS, A.L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-solo-carbon-source-utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57: 2351-2359, 1991.
- GRAYSTON, S.J.; CAMPBELL, C.D. Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology*, 16: 1031-1038, 1996.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of hight plants. Academic Press, San Diego, C.A. 889p. 1995.
- ZAK, J.C.; WILLING, M.R.; MOOREHEAD, D.L.; WILDMAN, H.G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology & Biochemistry*, 26: 1101-1108, 1994.