

IMPACTO DA CANA NA COMUNIDADE DE DESNITRIFICANTES, FLUXO DE N₂O E POTENCIAL DE DESNITRIFICAÇÃO DO SOLO DE CERRADO.

Rachid, C.T.C.C.¹; Leite, D.C.A.²; Coutinho, H. L. C.²; Baliero, F. C.²; Peixoto, R.S.³; Rosado, A.S.³; Piccolo, M.C.¹

¹ CENA/USP 13400-970, Piracicaba, SP; ² Embrapa Solos, 22460-000, Rio de Janeiro, RJ; ³ UFRJ, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ; caiorachid@bol.com.br

ABSTRACT: O Cerrado é um importante componente do bioma brasileiro, possui enorme diversidade e endemismo de espécies, e vem perdendo espaço para o plantio de cana de açúcar. A mudança no uso do solo altera a qualidade, composição e a estrutura das comunidades microbianas do solo. Este trabalho relacionou o plantio e manejo da cana de açúcar no solo de Cerrado com as alterações na estrutura da comunidade bacteriana desnitrificante e a relação destas com a desnitrificação potencial e fluxo de óxido nitroso do solo. Foram selecionadas uma área de Cerrado Nativo e duas áreas sob plantio de cana com diferentes manejos, uma de Cana Crua e outra de Cana Queimada. Foram feitas análises da estrutura da comunidade de bactérias desnitrificantes por PCR/DGGE, das taxas de desnitrificação potencial, do teor de nitrato e cálculo de WFP. A mudança no uso do solo provocou alterações marcantes na estrutura das comunidades bacterianas, e no potencial de desnitrificação do solo, mas produziu reflexos não significativos no fluxo de N₂O do solo.

Key Words: *Cerrado, Denitrification, Bacterial community.*

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior componente do bioma brasileiro. Com cerca de dois milhões de quilômetros quadrados, possui enorme diversidade e endemismo de espécies que estão sofrendo impacto com a expansão da fronteira agrícola (Conservation International, 2008). O cultivo da cana de açúcar ocupa posição de destaque no cenário agrícola brasileiro, com valor superior a dezessete bilhões de reais (IBGE, 2007). Sua área colhida está em contínua expansão, principalmente nas regiões de Cerrado da região centro-oeste (IBGE, 2009). É conhecido que a mudança no uso do solo provoca alterações na qualidade e composição química e na diversidade microbiológica do solo (Peixoto et. al., 2005; Aboim et. al., 2008.). Essas mudanças podem influenciar os ciclos biogeoquímicos dos nutrientes, entre os quais se destaca o nitrogênio devido à sua importância agrícola e ambiental (Bustamante et. al., 2006). Uma das formas de perda de nitrogênio do solo é o processo de desnitrificação (BOUWMAN, 1998). O processo representa prejuízo econômico na agricultura, pela redução do N do solo e prejuízo ambiental, já que o N₂O possui elevado potencial de aquecimento global (IPCC, 2007). Estudar as transformações do nitrogênio é fundamental para o entendimento do impacto do uso e manejo do solo nos fluxos desse elemento (Piccolo et. al., 1997). O presente trabalho tem como objetivo, relacionar o plantio e manejo da cana de açúcar no solo de Cerrado, às alterações na estrutura da comunidade de bactérias desnitrificantes nas diferentes classes de agregados, assim como avaliar a relação destas com a desnitrificação potencial e fluxos de N₂O do solo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As áreas de estudo estão localizadas na Fazenda Itamaraty (17° 55' 35" S 50° 08' 36" O), Porteirão, GO, (Aw (Köppen)). Foram selecionadas áreas sob plantio de cana há cerca de dez anos, sendo uma com colheita manual e histórico de queima mais recente (11 meses), denominada Cana Queimada, e outra com colheita mecânica e histórico de queimada mais antigo (3 anos), denominada Cana Crua. Foi ainda escolhida uma área de Cerrado nativo como referência.

O teor de nitrato do solo (0-10cm), extraído com solução de KCl 2N, foi determinado pelo sistema automático de injeção de fluxo contínuo (FIA), em cinco amostras compostas de cinco sub-amostras por tratamento (Neill et. al., 1995).

A determinação do fluxo de N₂O foi feito com o uso de câmaras estáticas de volume conhecido (seis por tratamento), com coletas diárias, durante 72 horas. As concentrações foram determinadas por cromatografia gasosa (Shimadzu GC17A).

Os valores do conteúdo gravimétrico de água Θ_g (g g⁻¹) foram convertidos para grau de saturação da água do solo (WFPS%), pela fórmula: $WFPS\% = (100\Theta_g d) / [1 - (d/dp)]$, na qual d é a densidade do solo e dp é a densidade de partícula (Linn & Doran, 1984).

As taxas de desnitrificação potencial foram determinadas nas amostras de solo fresco, incubados em frascos de vidro hermeticamente fechados, acrescidos de solução nutritiva com clorafenicol (Robertson, 1999). A atmosfera do frasco foi substituída por N₂ e adicionada de acetileno (10% do volume). Amostras de gás foram retiradas (tempos 0, 30, 70 e 90 min.) e analisadas por cromatografia gasosa.

A análise molecular das comunidades de bactérias desnitrificantes, foi feita em amostras de solo (0-10 cm) compostas de cinco sub-amostras. Os solos foram separados em classes de agregados, por via seca, com auxílio de um vibrador mecânico, em: macro-agregados grandes (4mm > x > 2mm), macro-agregados (2mm < x < 0,250mm) e micro-agregados (0,250mm < x < 0,053mm).

A extração do DNA total do solo foi feita com a utilização do FastDNA® Spin kit for Soil (Bio 101, CA, USA), e FastPrep®, de acordo com as normas do fabricante. As comunidades bacterianas desnitrificantes foram avaliadas utilizando o par de iniciadores F1aCu e R3CuGC (Throbäck et. al, 2004). O produto de PCR foi obtido com uma desnaturação inicial do DNA a 94 °C por 2 min., seguido por 5 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min. a 60 °C, 1 min. a 72 °C; 30 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min. a 62 °C, 1 min. a 72 °C e um extensão final de 10 min. a 72 °C. A estrutura da comunidade bacteriana foi analisada pela técnica de DGGE (Muyzer, et al., 1993), em géis de poliacrilamida (6%),

com gradiente desnaturante de 40 a 70%. Foram montados dendogramas baseados nos perfis de bandas observados utilizando-se o coeficiente de similaridade de Pearson e o método de agrupamento UPGMA, através da utilização do software Bionumerics (Applied Maths). As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando-se o programa STATISTICA 8 (StatSoft).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O dendograma de similaridade (Figura 1) mostra claramente duas grandes segregações. A primeira, em nível de uso da terra, separa a área de Cerrado da de plantio de Cana. A segunda, em nível de manejo, separa a área de plantio de Cana Crua da de plantio de Cana Queimada, mostrando a influência do uso do solo e do manejo no perfil da estrutura da comunidade bacteriana desnitrificante.

A separação dos solos em diferentes classes de agregados foi feita com objetivo de entender se as mudanças no uso do solo possuem efeito mais acentuado sobre alguma classe em específico. No entanto, a análise do perfil de bandas do DGGE, mostra que essa modificação não afeta especialmente uma classe de agregados, pois para cada tratamento, um tipo de agrupamento diferente foi formado.



Figura 1 – Agrupamento dos perfis de bactérias desnitrificantes dos macro agregados grandes (H Ma), macro agregados (Ma) e micro agregados (Mi), para os tratamentos Cerrado (Ce), Cana Crua (Cc) e Cana Queimada (Cq), obtido através do uso do software Bionumerics (Applied Maths) utilizando-se o coeficiente de similaridade de Pearson e o método de agrupamento UPGMA.

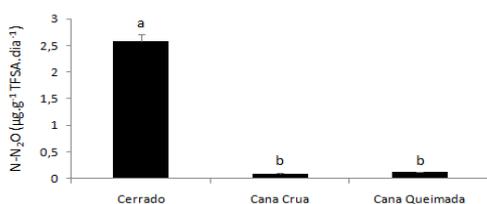


Figura 2 – Taxas de desnitrificação potencial ($m \pm dp$) do solo (0-10 cm) sob Cerrado (n=3), Cana Crua (n=2) e Cana Queimada (n=3). Letras iguais representam diferenças não significativas entre os tratamentos (Tukey, 5% de probabilidade).

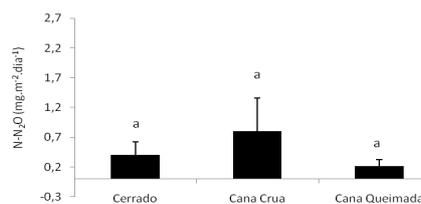


Figura 3 - Fluxo de N₂O ($m \pm dp$) do solo sob Cerrado (n=18), Cana Queimada (n=18), e Cana Crua (n=12). Letras iguais representam diferenças não significativas entre os tratamentos (Kolomolov-Smirnov, 5% de probabilidade).

Os dados da taxa de desnitrificação potencial (Figura 2) mostram uma grande diferença entre a taxa de desnitrificação potencial do Cerrado e das áreas cultivadas. A mudança do uso do solo parece ter reduzido significativamente o potencial de desnitrificação, o que poderia ser devido a uma possível supressão da atividade microbiana específica. Comparando esse dado com o dendograma de obtido através da técnica de PCR/DGGE, podemos sugerir que a mudança na estrutura da comunidade desnitrificante refletiu na

capacidade metabólica do grupo. No entanto o fluxo de N₂O medido no campo (Figura 3), não apresentou diferenças significativas entre os três tratamentos, sugerindo que a mudança na estrutura da comunidade não provocou mudanças no fluxo do gás em situação de campo. Duas características poderiam explicar essa ocorrência;

O Teor de nitrato (Figura 4) nas áreas com cana foi significativamente maior que o encontrado na área com cerrado nativo, provavelmente devido à fertilização da lavoura.

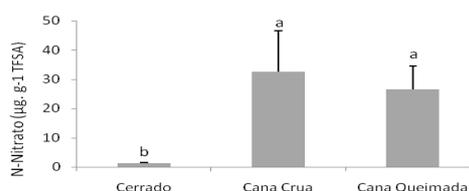


Figura 4 – Teores de N-Nitrato nos três tratamentos. Letras diferentes representam alterações significativas (Kolomolov-Smirnov, 5%) entre os teores de nitrato (n=15) nos tratamentos.

O grau de saturação de água no solo (WFPS) foi de 41,8% no Cerrado, 58,7% na Cana Crua e 64,9 % na Cana Queimada. Assim, apesar do maior potencial de desnitrificação existente no Cerrado em relação às áreas de cana, não se observaram maiores fluxos de óxido nitroso no bioma devido à baixa saturação de água encontrada do Cerrado.

4. CONCLUSÃO

A mudança no uso do solo provocou mudanças marcantes na estrutura comunidade de bactérias desnitrificantes do solo, assim como na taxa de desnitrificação potencial do solo nas áreas de cana. Contudo, a combinação de baixo valor de WFPS com teor reduzido de nitrato no Cerrado provoca fluxos estatisticamente iguais em todos os tratamentos.

5. BIBLIOGRAFIA

- Aboim, M.C.R.; Coutinho, H.L.C.; Peixoto, R.S.; Barbosa, J.C.; Rosado, A.S.; Soil bacterial community structure and soil quality in a slash-and-burn cultivation system in southeastern Brazil. *Applied Soil Ecology*, 2008, 38:100-108.
- Bowmann, A.F. Nitrogen oxides and tropical agriculture. *Nature*, London, 1998, 392:866-867.
- Bustamante, M.M.C.; Medina, E.; Asner, G.P.; Nardoto, G.B.; Garcia-Montiel, D.C. Nitrogen Cycling in tropical and temperate savannas. *Biogeochemistry* 2006 79:209-237.
- Conservation International – *Biodiversity Hotspots*: <http://www.biodiversityhotspots.org> acesso em 13/03/2008.
- Davidson, E.A.; Bustamante, M.M.C.; Siqueira Pinto, A. Emissions of nitrous oxide and nitric oxide from soils of native and exotic ecosystems of the Amazon and Cerrado regions of Brazil. In *Optimizing Nitrogen Management in Food and Energy Production and Environmental Protection: Proceeding of the 2nd International Nitrogen Conference on Science and Policy* The Scientific World, Berkshire, 2001, 1:312-319.
- IBGE, – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. www.ibge.com.br, 2007 e 2009 acesso em 05/2009.
- IPCC, 2007: *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden and C.E.Hanson, Eds., Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, 976pp.
- Muyzer, G.; Wall, E.C. de; Uitterlinden, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA *American Society for Microbiology*, Washington, 1993, 695-700.
- Neill, C.; Piccolo, M.C.; Steudler, P.A.; Melillo, J.M.; Feigl, B.J.; Cerri, C.C. 1995, Nitrogen dynamics in soils of forest and active pastures in the Western Brazilian Amazon Basin. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(29):1167-1175.
- Peixoto, R. S.; Coutinho, H. L. C.; Madari, B., Machado, P. L. O. A.; Rumjanek, N. G.; Van Elsas, J. D.; Seldin, L., Rosado, A. S. Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. 2006, 90:16-28
- Piccolo, M.C.; Neill, C.; Cerri, C.C., Net nitrogen mineralization and net nitrification along a tropical forest-to-pasture chronosequence. *Plant and Soil*, 1994, 162:61-70.
- Robertson, G.P.; Bledsoe, C.S.; Coleman, D.C.; Sollins, P., *Standard Soil Methods for Long Term Ecological Research*. Oxford University Press, Nova York, 1999, 486 p.
- THROBÁCK et. al. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49, 401-417.