

Diversidade bacteriana do solo em florestas de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium* acessada pela plataforma *Ion Torrent*TM (1)

Arthur Prudêncio de Araujo Pereira⁽²⁾; **Pedro Avelino Maia de Andrade**⁽³⁾; **Fernando Dini Andreote**⁽⁴⁾; **Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso**⁽⁴⁾

(1)Trabalho executado com recursos da FAPESP (proc. n.º 122790) e CNPq (proc. n.º 476122).

(2)Estudante de Doutorado pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) no Programa de Pós-Graduação em "Solos e Nutrição de Plantas"; Bolsista CNPq, Piracicaba, São Paulo; Av. Pádua Dias, s/n, São Dimas. E-mail: arthur.prudencio@usp.br; (3)Estudante de Doutorado pelo programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola (ESALQ/USP), Bolsista CNPq. E-mail: pedro890@gmail.com; (4)Professor Doutor de Microbiologia do Solo (ESALQ/USP) E-mail: ejbncard@usp.br e fdandreo@gmail.com.

RESUMO: O objetivo principal desse trabalho foi avaliar a influência de cultivos puros e mistos de *E. grandis* e *A. mangium* e da profundidade do solo sobre a abundância de grupos taxonômicos bacterianos do solo. Foram abertas trincheiras profundas (0-800 cm) em plantios puros de Acácia (100A), Eucalipto (100E) e em sistemas mistos entre as duas espécies (A+E). As amostras foram sequenciadas (região V6, 16S) pela plataforma *Ion Torrent*TM. O plantio 100E apresentou, quando comparado aos demais, maior abundância do filo Firmicutes. Acidobacteria foi, independentemente do plantio, o filo mais abundante nas camadas 0-20 e 100-200 cm, tendo sua frequência drasticamente reduzida nas camadas 700-800 cm. Desta forma, foi possível concluir que ocorrem fortes mudanças na abundância de grupos bacterianos nos sistemas de plantios analisados, sendo tais mudanças acentuadas tanto entre os cultivos arbóreos quanto nas profundidades de solos amostradas.

Termos de indexação: Ecologia microbiana, microbiologia do solo, sequenciamento, 16S.

INTRODUÇÃO

Com intuito de minimizar a redução do conteúdo de N do solo que ocorre em plantios sucessivos e mono-específicos de eucalipto, uma alternativa promissora está sendo a implantação de plantios mistos entre Eucalipto e árvores fixadoras de N₂ atmosférico. Estudos que avaliem alterações que ocorrem na comunidade bacteriana em plantios mistos entre *E. grandis* e *A. mangium* ainda são incipientes, assim como o conhecimento do comportamento dessa comunidade ao longo do perfil do solo.

O objetivo deste trabalho foi estudar, por meio do sequenciamento parcial do gene 16S via *Ion Torrent Plataform*TM, a influência da profundidade do solo (0-800 cm), e a influência dos sistemas de plantios puros e mistos de *E. grandis* e *A. mangium* na

estrutura e diversidade de grupos da comunidade bacteriana total do solo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Estação Experimental de Ciências Florestais de Itatinga, São Paulo/Brasil. O solo da área foi classificado como Latossolo amarelo distrófico (Gonçalves et al., 2012). Avaliou-se a diversidade de grupos da comunidade bacteriana num gradiente de profundidade do solo (0-800 cm). Para isso, foram abertas trincheiras profundas em plantios puros de Acácia (100A), Eucalipto (100E) e em sistemas mistos entre as duas espécies (A+E). No plantio misto, as áreas foram subdivididas, onde fizeram-se coletas de solo na base da Acácia A(A+E) e na base do Eucalipto E(E+A). Cerca de 10 camadas do solo foram avaliadas ao longo do perfil das trincheiras, sendo coletados pontos de 0 a 800 cm, com 4 repetições cada. A comunidade bacteriana foi acessada por meio do sequenciamento parcial da região V6 do gene 16S, com o uso dos primers Bac967fF e Bac1046R. As sequências de cada amostra foram identificadas pelo uso de marcadores adicionais (barcodes), compostos por cinco nucleotídeos, incluídos no iniciador Bac96fF (Bigaton, 2015). Os produtos de PCR foram purificados e submetidos ao sequenciamento usando a plataforma *Ion Torrent Personal Genome Machine System* (PGM), com um chip *Ion 316*TM (Life Technologies), conforme (Bigaton, 2015). As sequências foram trimadas e convertidas em uma matriz de UTOs (Unidades Taxonômicas Operacionais) e em seguida foi construído um gráfico de abundância taxonômica pelo QIIME (*Quantitative Insights Into Microbial Ecology*).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A diversidade de grupos taxonômicos das comunidades bacterianas, quando comparados os

cultivos analisados, se mostrou, de forma geral, bastante semelhante, exceto no tratamento 100E, que apresentou maior abundância de Firmicutes (29,08 %), quase o dobro da abundância encontrada no plantio E(E+A) (13,39 %) (Figura 1) e menor proporção de Proteobacteria.

Com relação à profundidade do solo, verificou-se uma elevada abundância de Acidobacteria na camada de 0-20 e 100-200 cm do solo, 38,8 % e 31,3 %, respectivamente (Figura 2). Contudo, em camadas intermediárias do solo, como de 300-400 cm, alguns grupos taxonômicos se mostraram bastante distintos dos que foram formados em superfície, como por exemplo o percentual de Acidobacteria, que se reduziu de 38,8 % em 0-20 cm, para 11,69 % na camada do solo em questão (Figura 2). Pesquisas recentes mostraram que, em camadas abaixo de 100 cm, podem prevalecer micro-organismos que desempenham funções totalmente diferentes das desempenhadas em camadas superficiais do solo (Huang et al., 2014).

Nas camadas do solo abaixo de 400 cm de profundidade, independentemente do plantio, os grupos taxonômicos passaram a ser representados, principalmente, por Firmicutes, Bacteroidetes e Proteobacteria (Figura 2). Nestas camadas, algumas condições se tornam limitantes para o crescimento microbiano, como a menor alocação de matéria orgânica, diferenciação na quantidade e qualidade de exsudatos, assim como pouca difusão de oxigênio (Pereira, 2005). Contrariamente, as variáveis atuantes na superfície do solo, como concentração de nutrientes, umidade, temperatura, sofrem variações mais bruscas do que em profundidades maiores. A menor variação desses atributos sugere que, provavelmente, ocorra pouca variabilidade genética nos horizontes profundos (Brady; Weil, 2002). Tais condições, agindo conjuntamente, podem fazer com que os processos genéticos e metabólicos nas camadas mais profundas ocorram de forma mais aleatória, levando à redução de grupos taxonômicos.

Em plantios mistos de *E. urograndis* e *A. mangium*, com desenho experimental semelhante ao aqui descrito, a comunidade bacteriana superficial (0-15 cm) no plantio misto, avaliada por DGGE, apresentou posição intermediária entre as comunidades presentes nas monoculturas avaliadas, expressando características de ambos plantios puros (Rachid et al. 2013). Os autores detectaram que os conteúdos de nitrogênio no solo, tanto nítrico quanto amoniacal, oriundos da inserção de árvores leguminosas no plantio, pode ter sido o fator preponderante nas alterações das

comunidades de bactérias nos plantios mistos de *E. urograndis* e *A. mangium* (Rachid et al., 2013).

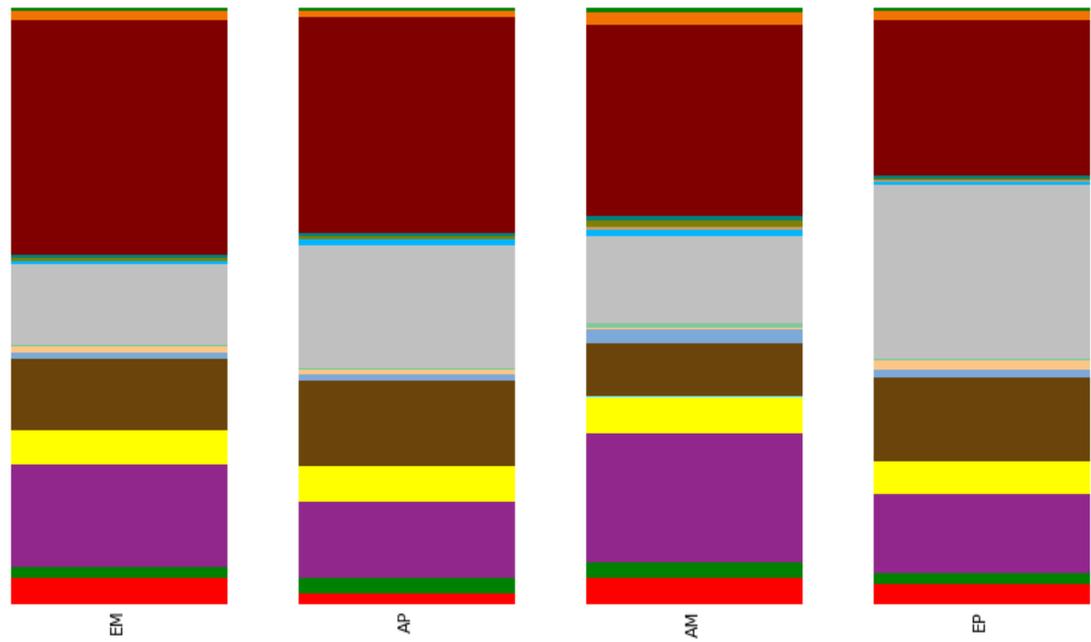
Até onde nos foi possível observar, não existem dados na literatura que descrevam a comunidade bacteriana em plantios florestais mistos, principalmente quando avaliada em camadas de até 8 metros de profundidade.

CONCLUSÃO

Foram encontradas mudanças significativas na abundância de grupos bacterianos nos sistemas de plantios analisados. Tais mudanças foram acentuadas tanto em profundidade, quanto entre os tratamentos estudados. Plantios puros de Eucalipto selecionaram grupos específicos de bactérias no solo, ao ponto de apresentar afiliação taxonômica de grupos distinta dos demais cultivos.

REFERÊNCIAS

- Bigaton, Ademir Durrer. **Diversidade de bactérias e arqueias em solos cultivados com cana-de-açúcar: um enfoque biogeográfico**. 2015. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015. Acesso em: 2015-06-08.
- Brady, N.; Weil, R. The nature and properties of soils. 13th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. 960 p.
- Huang, X.; Liu, S.; Wang, H.; Hu, Z.; Li, Z.; You, Y. Changes of soil microbial biomass carbon and community composition through mixing nitrogen-fixing species with *Eucalyptus urophylla* in subtropical China. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 18, p. 42-48, 2014.
- Gonçalves, J.L.M.; Stape, J.L.; Laclau, J.P.; Smethurst, P.; Gava, J.L. Silvicultural effects on the productivity and wood quality of *Eucalyptus* plantations. **Forest Ecology & Management**, Amsterdam, v. 193, p. 45-61, 2004.
- Pereira, Arthur Prudêncio de Araujo. **Influência da profundidade do solo e do manejo de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium* na estrutura das comunidades microbianas do solo**. 2015. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015. Acesso em: 2015-06-08.
- Rachid, C.T.C.C.; Balieiro F.C.; Peixoto, R.S.; Pinheiro, Y.A.S.; Piccolo, M.C.; Chaer, M.G.; Rosado, A.S. Mixed plantations can promote microbial integration and soil nitrate increases with changes in the N cycling genes. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 18. p. 146-153, 2013.



Legend	Taxonomy	Total %	EM %	AP %	AM %	EP %
	Unassigned:Other	3.5%	4.4%	1.9%	4.4%	3.3%
	k_Bacteria:Other	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_AD3	2.2%	1.7%	2.5%	2.6%	1.9%
	k_Bacteria:p_Acidobacteria	16.2%	17.1%	12.8%	21.6%	13.4%
	k_Bacteria:p_Actinobacteria	5.7%	5.9%	5.8%	6.0%	5.3%
	k_Bacteria:p_Armatimonadetes	0.1%	0.1%	0.0%	0.1%	0.1%
	k_Bacteria:p_BHI80-139	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_BRC1	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_Bacteroidetes	12.3%	11.8%	14.4%	8.9%	14.0%
	k_Bacteria:p_Caldiseirica	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_Chlamydiae	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_Chlorobi	0.0%	0.1%	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria:p_Chloroflexi	1.4%	1.1%	1.2%	2.2%	1.2%
	k_Bacteria:p_Cyanobacteria	0.9%	1.1%	0.6%	0.4%	1.6%
	k_Bacteria:p_Elusimicrobia	0.3%	0.3%	0.2%	0.6%	0.3%
	k_Bacteria:p_FBP	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_FCPU426	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_Firmicutes	19.5%	13.4%	20.8%	14.8%	29.1%
	k_Bacteria:p_Fusobacteria	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_GAL15	0.8%	0.6%	0.8%	1.0%	0.6%
	k_Bacteria:p_Gemmatimonadetes	0.2%	0.0%	0.1%	0.5%	0.2%
	k_Bacteria:p_Nitrospirae	0.6%	0.3%	0.6%	0.9%	0.4%
	k_Bacteria:p_OD1	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_OP3	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_Planctomycetes	0.6%	0.6%	0.5%	0.9%	0.3%
	k_Bacteria:p_Proteobacteria	33.4%	39.2%	36.1%	31.9%	26.2%
	k_Bacteria:p_SBR1093	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_Spirochaetes	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	k_Bacteria:p_TM6	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%	0.1%
	k_Bacteria:p_TM7	0.1%	0.1%	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria:p_Verrucomicrobia	1.6%	1.6%	1.1%	2.2%	1.5%
	k_Bacteria:p_WPS-2	0.5%	0.4%	0.5%	0.6%	0.5%
	k_Bacteria:p_WS3	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%	0.0%
	k_Bacteria:p_[Thermi]	0.0%	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%

Figura 1: Abundância de grupos taxonômicos de bactérias nos diferentes sistemas de plantios florestais: EM (Eucalypto presente no plantio misto), AP (Acácia Puro), AM (Acácia presente no plantio misto) e EP (Eucalypto Puro).

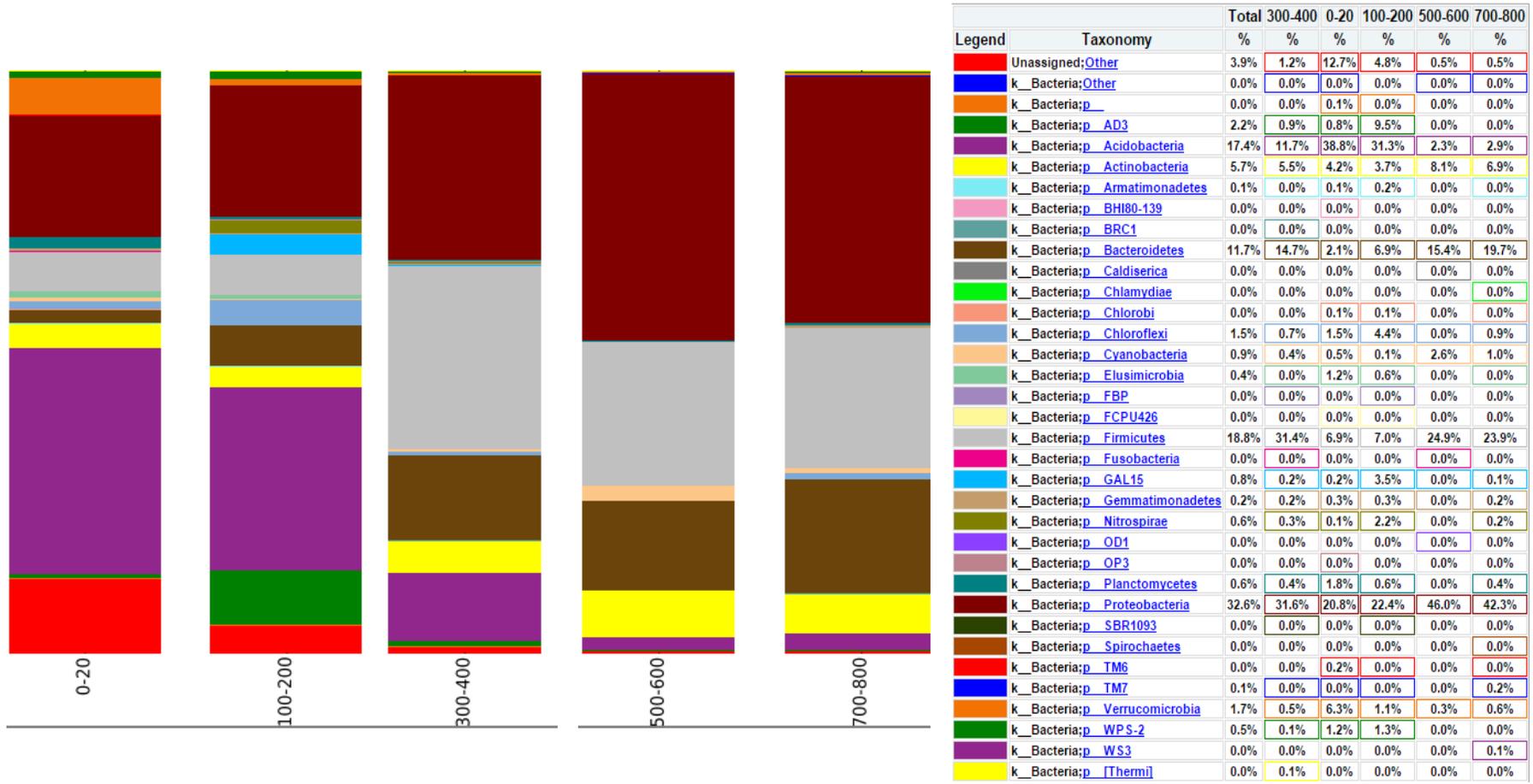


Figura 2. Abundância e frequência relativa de grupos taxonômicos bacterianos em função da profundidade do solo em plantios puros e mistos de *E. grandis* e *A. mangium*.