



Abundância de bactérias, arqueias e fungos em solos sob sistemas iLPF na Amazônia Meridional⁽¹⁾.

Carolina Hortêncio Malheiros⁽²⁾; Clovis Daniel Borges⁽³⁾; Daniela Tiago da Silva Campos⁽⁴⁾; Siu Mui Tsai⁽⁵⁾; Luiz Antônio de Oliveira⁽⁶⁾.

⁽¹⁾Trabalho executado com recursos da Fundação Agrisus

⁽²⁾Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Rede BIONORTE; Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM; chmalheiros@gmail.com; ⁽³⁾Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada; Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA-USP; ⁽⁴⁾Professora; Universidade Federal de Mato Grosso; ⁽⁵⁾Professora; Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA-USP; ⁽⁶⁾Pesquisador; Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia;

RESUMO: Compreender a comunidade microbiana é de grande relevância para avaliarmos as alterações ambientais. Assim, o presente trabalho teve como objetivo quantificar a comunidade de bactérias, arqueias e fungos em solo sob sistemas de integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) em uma Fazenda localizada na Amazônia Meridional no Município de Nova Canaã do Norte, MT, uma região de transição entre Cerrado-Amazônia. A coleta foi feita em maio de 2013, no período chuvoso, na profundidade de 0-10 cm, em quatro sistemas iLPF e como controles utilizou-se uma floresta nativa com características da região e um pasto tradicional. O DNA do solo foi extraído e a abundância do gene 16S rRNA de bactéria e arqueia e 18S ITS para fungos foram quantificados por PCR em Tempo Real (qPCR). Como era de se esperar, as bactérias mostraram-se mais abundantes que arqueias e fungos, podendo-se inferir que os microrganismos são sensíveis aos diferentes manejos do solo e também a espécie florestal adotada em cada sistema iLPF

Termos de indexação: qPCR, manejo do solo, sustentabilidade.

INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma enorme área no país dedicada à monocultura, especialmente para as lavouras de soja, milho, cana-de-açúcar e algodão, onde se vislumbra a máxima produtividade baseada no uso de insumos químicos que resultam em alterações físicas, químicas e microbiológicas do solo.

Dessa forma, há necessidade de compreendermos como a biodiversidade dos solos é afetada pela agricultura e pecuária em suas diversas formas, principalmente os microrganismos, pois compõe a base da cadeia trófica e estão diretamente associadas aos diversos processos ecológicos do solo, além de responderem rapidamente as

alterações impostas ao ambiente (Bunemann et al., 2006).

Existem alternativas viáveis para utilização sustentável dos recursos naturais, baseadas em conservação de solo e ambiente, maximizando o uso de recursos e a produção agropecuária, como o sistema de plantio direto na palha (SPD) e a diversificação das atividades, por meio da integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) e integração Lavoura-Pecuária (iLP).

A inclusão de pastagens e floresta em áreas agrícolas pode ser uma ferramenta útil na recuperação de áreas degradadas, bem como um meio para garantir a sustentabilidade desses sistemas.

As condições ambientais são determinadas pela abundância e composição da comunidade microbiana e também pela disponibilidade de substrato, e ainda sabemos pouco sobre as consequências ambientais na estrutura da microbiota do solo (Buckeridge et al., 2013).

O conhecimento da comunidade microbiana do solo além de fundamental para o levantamento dos microrganismos ali presentes pode levar ao conhecimento de processos metabólicos e funções exercidas por estes organismos sendo dessa forma, importantes para o entendimento das interações microbiológicas no ambiente (Ruegger & Tarkenton, 2004).

Nesse sentido, análises moleculares têm sido amplamente adotadas nos estudos para avaliar as comunidades microbianas em sistemas agrícolas, uma delas é a PCR em Tempo Real (qPCR), que surgiu como uma ferramenta promissora no estudo da microbiota do solo, uma vez que permite uma avaliação rápida e quantitativa da abundância de grupos filogenéticos específicos de microrganismos (Fierer et al., 2005)

Assim, o presente trabalho teve como objetivo quantificar a comunidade de bactérias, arqueias e fungos em solo sob sistemas de integração Lavoura-Pecuária-Floresta (iLPF) na Amazônia Meridional.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo compreende uma Fazenda localizada na Amazônia Meridional no Município de Nova Canaã do Norte, MT, uma região de transição entre Cerrado-Amazônia que possui uma unidade de referência tecnológica (URT) da EMBRAPA, entre a latitude S10°33'29" e longitude W55°57'11".

Tratamentos e amostragens

A coleta foi feita em maio de 2013, no período chuvoso, na profundidade de 0-10 cm, em quatro sistemas iLPFs que possuíam uma faixa de 200 m de largura com povoamento de uma espécie florestal distribuídos em sub-faixas composta por três linhas de 250 m de comprimento separadas entre si por 3 m, com distância entre plantas de 2 m e distância entre sub-faixas de 20 m, com plantio de soja (*Glycine max*) na safra, milho (*Zea mays*) na safrinha e *Brachiaria ruziziensis* na entresafra, nas entrelinhas. As espécies florestais utilizadas em cada tratamento foram: *Eucalyptus urograndis* (Eucalipto), *Schizolobium amazonicum* (Pinho Cuiabano), *Tectona grandis* (Teca), *Ochroma pyramidale* (Pau-balsa).

Como controles utilizou-se uma floresta nativa com características da região e um pasto tradicional com área de mesmo tamanho das iLPFs, com plantio de soja (*Glycine max*) na safra, milho (*Zea mays*) na safrinha e *Brachiaria ruziziensis* na entresafra, em sistema de plantio direto. Dentro de cada tratamento foi feito um quadrante de aproximadamente 40 m², onde delimitou-se 7 pontos amostrais.

As amostras de solo foram acondicionadas a -4 °C até o processamento das mesmas.

Análises Moleculares

O DNA do solo foi extraído com o *Power Soil DNA Isolation kit* (MoBio, EUA), e após a extração a integridade e qualidade do DNA foi avaliado por eletroforese em gel de agarose a 1 % (w/v) com brometo de etídio e visualizado em luz ultravioleta. E a concentração do DNA foi obtida em NanoDrop.

A quantificação da comunidade microbiana foi feita no equipamento *Step One Plus* (Applied Biosystems), utilizando SYBR Green. As reações de qPCR foram feitas com os *primers* bactéria (968F/1387R), arqueia (787/1059R) e fungo (EF4F/Fung5R).

Todas as reações tinham um volume total de 10 µL, sendo 5 µL de Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific), 1 µL de cada primer (5 pmol), 2 µL de água e 1 µL do DNA.

Para cada um dos genes avaliados foi construída uma curva padrão para quantificação do número de cópias conhecido usando diluição seriada de 10⁸ a 10⁴.

Análise dos dados

Os dados foram tabulados e analisados utilizando o programa Microsoft Excel 2013®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da técnica de qPCR determinou-se a quantidade de bactérias, arqueias e fungos em solos sob diferentes tipos de manejo. Esta metodologia permitiu quantificar o número de cópias das regiões do gene 16S rRNA de bactérias e arqueias e 18S ITS de fungos, o tamanho das regiões foi de 419pb, 272pb e 530pb, respectivamente.

Os valores de eficiência (E) foram de 100 % para bactérias e arqueias e 105 % para fungos e os valores de regressão logarítmica (R²) foram de 0,99 bactérias e arqueias e 0,98 para fungos.

Observou-se maior abundância de bactérias em solo sob Teca de 9,9.10⁸ e menor na Floresta 3,8.10⁸ (**Figura 1**).

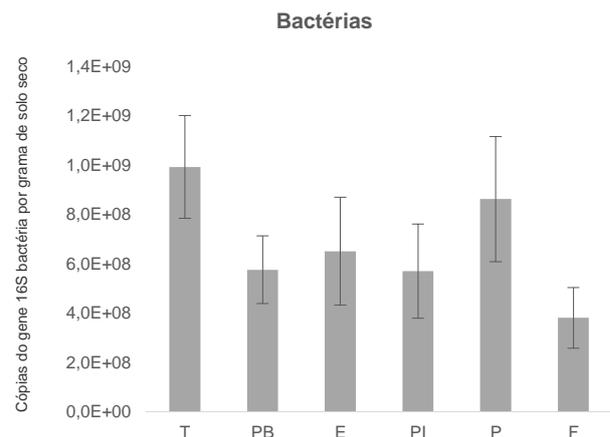


Figura 1 – Quantificação de cópias do gene 16S de bactérias em solos sob sistemas iLPF na Amazônia Meridional. Os valores indicam a média das repetições e as barras o erro padrão gerado. Legenda: T (Teca), PB (Pau-balsa), E (Eucalipto), PI (Pinho Cuiabano), P (Pasto), F (Floresta).

As arqueias, assim como as bactérias também tiveram maior abundância em solo sob Teca 6,3.10⁶ e foram drasticamente afetadas na área de Pasto resultando em menor abundância 4,1.10⁵ (**Figura 2**), podendo-se inferir que esses microrganismos são extremamente afetados pelas condições ambientais impostas em sistemas de pasto tradicional.

Os fungos apresentaram uma abundância maior em solo sob Eucalipto 1,5.10⁶ e menor em solo sob Pinho 5,4.10⁵ (**Figura 3**). Além disso apresentaram um padrão de abundância bem diferente das bactérias e arqueias, podendo-se inferir que a espécie florestal adotada no sistema iLPF tem forte influência sobre a comunidade fúngica, provavelmente os exsudatos liberados pela planta

que podem inibir ou estimular o crescimento desses microrganismos.

onde pode ser observada uma diferença no número de cópias dos genes de bactérias, arqueias e fungos.

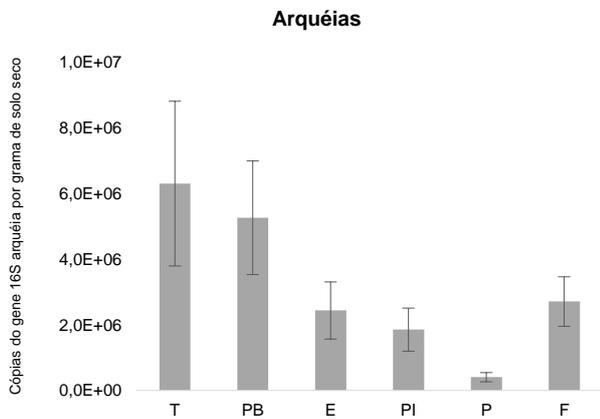


Figura 2 – Quantificação de cópias do gene 16S de arqueias em solos sob sistemas iLPF na Amazônia Meridional. Os valores indicam a média das repetições e as barras o erro padrão gerado. Legenda: T (Teca), PB (Pau-balsa), E (Eucalipto), PI (Pinho Cuiabano), P (Pasto), F (Floresta).

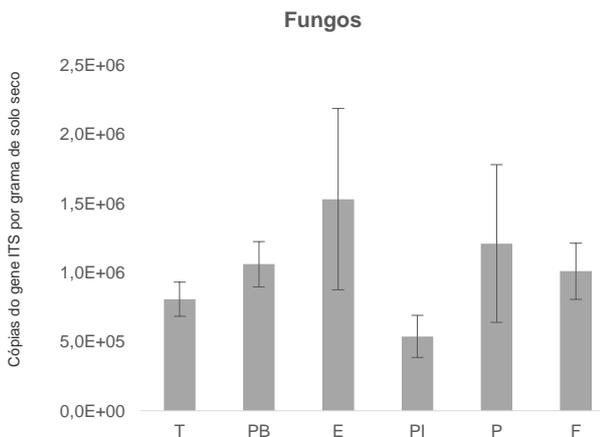


Figura 3 – Quantificação de cópias do gene ITS de fungos em solos sob sistemas iLPF na Amazônia Meridional. Os valores indicam a média das repetições e as barras o erro padrão gerado. Legenda: T (Teca), PB (Pau-balsa), E (Eucalipto), PI (Pinho Cuiabano), P (Pasto), F (Floresta).

Como era de se esperar, as bactérias mostraram-se mais abundantes que arqueias e fungos, o que também pode ser observado na literatura (Prosser; nicol, 2008; Fierer et al., 2005; Silva et al., 2012).

Nota-se que os diferentes tipos de manejo do solo tem grande influência sobre determinados grupos de microrganismos, uma vez que a microbiota é sensível às alterações causadas pelos sistemas de manejo e pela disponibilidade de nutrientes.

A espécie florestal adotada em cada sistema também tem grande influência na composição da microbiota, o que fica evidente no presente estudo,

CONCLUSÕES

É necessário trabalhar com genes específicos para avaliar quais grupos estão em maior ou menor abundância no solo em cada um dos sistemas avaliados. Os resultados obtidos demonstraram que o principal modulador dessas comunidades é o tipo de manejo do solo, e provavelmente as características físicas e químicas que não foram abordadas, uma vez que os dados do estudo são preliminares.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Agrisus pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa, a CAPES pela bolsa de doutorado e ao CENA-USP por disponibilizar infraestrutura para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

a. Periódicos:

BUCKERIDGE, K. M.; BANERJEE, S.; SICILIANO, S. D.; GROGAN, P. The seasonal pattern of soil microbial community structure in mesic low arctic tundra. *Soil Biology & Biochemistry*, 65:338-347. 2013.

BUNEMANN, E. K., SCHWENKE, G. D., VAN ZWIETEN, L. Impact of agricultural inputs on soil microorganisms – a review. *Australian Journal of Soil Research*, 44:379-406, 2006.

FIERER, N.; JACKSON, J. A.; VILGALYS, R.; JACKSON, R. B. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:4117-4120. 2005.

PROSSER, I. J.; NICOL, G. W. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment. *Environmental Microbiology*, 10:2931-2941. 2008.

RUEGGER, M. J. S.; TAU-K-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 27:205-211. 2004.

SILVA et al., Spatial and Temporal Variation of Archaeal, Bacterial and Fungal Communities in Agricultural Soils. *Dynamics of Soil Microbial Communities*, 7:1-10. 2012.

