

# IMPACTO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO SOBRE A MICROBIOTA DO SOLO RIZOSFÉRICO DE ARROZ

MARINA M. **GORIA**<sup>1</sup>; RAQUEL **GHINI**<sup>2</sup>; VALÉRIA **MARINO**<sup>3</sup>

Nº 0702009

## Resumo

A intensificação da atividade antrópica está causando significativo aumento da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na atmosfera, resultando em alterações no clima do planeta que devem ser acentuadas nas próximas décadas. Além das mudanças climáticas previstas, impactos também ocorrerão no ambiente biótico. O trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico na microbiota do solo rizosférico de arroz (cultivar Agulha Precoce), em ensaio conduzido em estufas de topo aberto. Os tratamentos com injeção automatizada do gás apresentaram concentração média de 613 ppm de CO<sub>2</sub>. Como testemunha, foram utilizadas parcelas sem estufa e sem injeção do gás. Não houve efeito dos tratamentos no carbono da biomassa microbiana, na hidrólise de diacetato de fluoresceína, no desprendimento de CO<sub>2</sub> e na condutividade elétrica do solo rizosférico e no número de bactérias diazotróficas endofíticas isoladas das raízes utilizando-se meio de cultura JNFb semi-específico para *Herbaspirillum*. Os tratamentos com estufa apresentaram aumento do pH do solo, sendo que o maior aumento foi obtido no tratamento com injeção de CO<sub>2</sub>.

## Abstract

The intensification of the antropogenic activity is causing significant increase of carbon dioxide concentration (CO<sub>2</sub>) in the atmosphere. In the next decades, these activities will result in global climate alterations. Beyond the expected climatic changes, impacts will also occur in the biotic environment. The aim of this work was to evaluate the effect of atmospheric CO<sub>2</sub> increase in the rizosphere microbiota of rice ("Agulha Precoce"). The assays were lead in open top chamber (OTC). As control, plots without chamber and non-gas injection had been used. The treatments with automatized gas injection presented

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia Agrônômica, ESALQ/USP, Piracicaba-SP, marinagr@uol.com.br

<sup>2</sup> Orientador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente/CNPq, CP 69, CEP 13820-000 Jaguariúna, SP

<sup>3</sup> Colaborador: IAC, Centro de Solos e Recursos Ambientais, CP 28, CEP 13010-970 Campinas, SP

average concentration of 613 ppm of CO<sub>2</sub>. In the treatments: soil microbial biomass, fluorescein diacetate (FDA) hydrolysis, respiratory activity, electric conductivity of the rizosphere and number of endophytic diazotrophic bacteria of the roots using specific JNFb culture media for *Herbaspirillum*, none effect was observed. An increase of soil pH was observed under OTC, especially with CO<sub>2</sub>.

## **Introdução**

Desde a Revolução Industrial, a concentração de gás carbônico está aumentando significativamente devido à atividade antrópica. De 1960 a 2005, a taxa média anual de aumento foi de 1,4 ppm, porém, de 1995 a 2005, o aumento foi de 1,9 ppm (IPCC, 2007). As projeções indicam que esse aumento deve continuar nas próximas décadas.

Em plantas, de modo geral, o aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> causa elevação nas taxas fotossintéticas e maior produtividade. A relação C:N nas raízes e nas folhas tende a aumentar e devem ocorrer alterações nos compostos orgânicos do solo (COTRUFO et al., 1998). Porém, pouco se sabe sobre mudanças na composição dos compostos liberados pelas raízes (HODGE et al., 1998).

O trabalho teve o objetivo avaliar os efeitos do aumento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a microbiota da rizosfera de arroz. Para tanto, foram realizadas avaliações da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), carbono da biomassa, desprendimento de CO<sub>2</sub> e do número de bactérias endofíticas nas raízes em meio JNFb semi-específico para *Herbaspirillum*, além de pH e de condutividade elétrica do solo da rizosfera do arroz.

## **Material e Métodos**

O estudo foi realizado em estufas de topo aberto ("open top chamber" – OTC, com 1,91 m de diâmetro e 2 m de altura), instaladas na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, SP (Figura 1). Os tratamentos foram: 1) Testemunha: ambiente aberto sem estufa e sem injeção de CO<sub>2</sub>; 2) Estufa: estufa de topo aberto, sem injeção de CO<sub>2</sub>; e 3) Estufa + CO<sub>2</sub>: estufa de topo aberto, com injeção automatizada de CO<sub>2</sub>. Os tratamentos foram casualizados em blocos com três repetições. As amostras de ar foram avaliadas quanto à concentração do gás com uso de um IRGA (Infrared Gas Analyzer, modelo WMA-4 da PP System).



**FIGURA 1.** Estufas de topo aberto.

Em 19/12/06, foi realizada a semeadura do arroz (*Oryza sativa*), cultivar Agulha Precoce, em cinco sub-parcelas (16x32 cm, 180 sementes por sub-parcela) de cada parcela. Após sete semanas, amostras de solo rizosférico foram coletadas, peneiradas (2 mm) e conduzidas ao laboratório para as avaliações microbiológicas.

Hidrólise de FDA - Metodologia semelhante à descrita por BOEHM & HOITINK (1992) e GHINI et al. (1998) foi utilizada. Foram utilizadas amostras de 5 g de solo rizosférico, em três repetições, de cada parcela experimental. Em espectrofotômetro, determinou-se a absorbância (490 nm) dos filtrados. A concentração de FDA hidrolisado ( $\mu\text{g}$  FDA hidrolisado  $\text{g solo seco}^{-1} \text{ min.}^{-1}$ ) foi obtida através de uma curva padrão. A seguir, metodologia semelhante à anterior foi realizada para se obter a curva padrão entre o FDA hidrolisado e a absorbância.

Desprendimento de  $\text{CO}_2$  - As amostras de solo (100 g) foram incubadas em recipientes plásticos hermeticamente fechados (2 L), em três repetições, contendo 10 mL de KOH 0,5N, no escuro, a 25 °C. Após 14 dias de incubação, o KOH foi titulado com HCl, segundo o método descrito por GRISI (1978), para a determinação da quantidade total de  $\text{CO}_2$  desprendido.

Carbono da biomassa microbiana – Foi utilizado o método da fumigação-extração descrito por VANCE et al. (1987). Amostras de 30 g de solo, em três repetições, foram fumigadas com clorofórmio. A mesma quantidade de solo não foi fumigada. O carbono liberado da biomassa foi extraído por uma solução de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ . Determinou-se o carbono pela redução do dicromato de potássio dos extratos filtrados. A quantidade de carbono da biomassa microbiana foi determinada pela diferença entre o carbono orgânico extraído das

amostras fumigadas e não fumigadas e foi utilizado o fator de correção (Kec)<sup>3</sup> de 0,38 (FRIGHETTO, 2000).

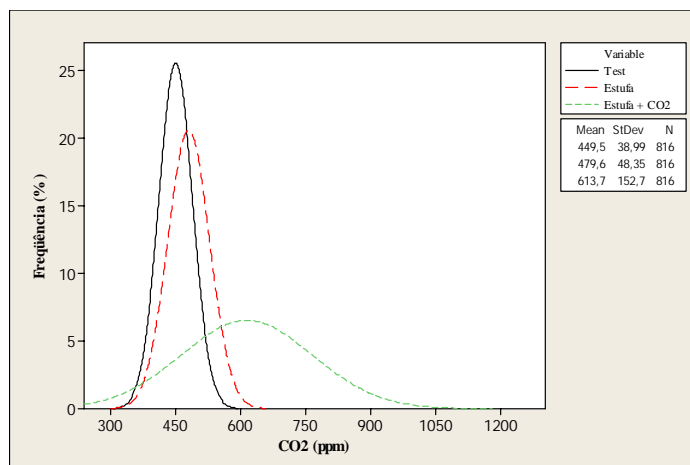
Bactérias endofíticas - Raízes de dez plantas por parcela foram lavadas, das quais foram tomados 10g e submetidas à desinfestação superficial em solução de etanol a 70% por 90 segundos, transferidas para uma solução de hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo (v/v) acrescido de Tween 20 (1 mL.L<sup>-1</sup>) por 3 minutos, e novamente, para uma solução de etanol a 70% por 45 segundos. Seguiu-se a três lavagens em água destilada esterilizada. As amostras foram trituradas em liquidificador por dois minutos, em solução salina. A seguir, foram feitas diluições seriadas das amostras em solução salina, de 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-7</sup>, e inoculadas em meio de cultivo JNFb, semi-sólido e sem nitrogênio, com cinco repetições por diluição. Em seguida, as culturas foram incubadas a 28 °C, por um período de oito a treze dias, para a avaliação da presença de bactérias diazotróficas endofíticas baseado na formação de uma película característica no meio de cultivo. A contagem do número de bactérias foi realizada pelo método do número mais provável (NMP), utilizando-se a Tabela de McCrady (DÖBEREINER et al., 1995).

Condutividade elétrica e pH - Para a análise de condutividade elétrica foram feitas triplicatas das amostras utilizando-se 10 g de solo para cada repetição, com 50 mL de água bidestilada. Procedeu-se a leitura da condutividade do sobrenadante em condutímetro calibrado. Para a determinação do pH, foram utilizadas amostras de 10 g de solo, em três repetições, juntamente com 25 mL de água bidestilada. A leitura foi realizada em pHmetro – Digimed digital (DM – 20).

Análise estatística – Os dados obtidos foram analisados pelo programa Minitab 14, submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## **Resultados e Discussão**

Os tratamentos com injeção automatizada do gás apresentaram concentração média de 613 ppm de CO<sub>2</sub>, enquanto as parcelas sem estufa atingiram 450 ppm e com estufa sem injeção, 480 ppm (Figura 2). O ambiente das parcelas sem injeção apresentou alta concentração devido à respiração das plantas.



**FIGURA 2.** Concentração de CO<sub>2</sub> durante o cultivo do arroz.

Não foram observados efeitos do aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico nas variáveis avaliadas (Tabela 1). Houve somente uma tendência de aumento do pH em ambiente com aumento de CO<sub>2</sub>. Um dos motivos pode ser o fato da ordem de grandeza da concentração de CO<sub>2</sub> no solo ser naturalmente muitas vezes superior à da atmosfera. Entretanto, na quantificação de bactérias endofíticas em meio JNFb observou-se efeito contrário, ou seja, houve uma diminuição no número de microrganismos com o aumento de CO<sub>2</sub>. Provavelmente, devido a maior taxa fotossintética em ambiente com aumento de CO<sub>2</sub>, as plantas não precisaram se associar com estas bactérias, as quais teriam a principal função de auxiliar na nutrição da cultura. Porém, serão necessários mais ciclos, ou maior período de tempo para a observação de efeitos mais significativos.

**TABELA 1.** Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico sobre características químicas e microbiológicas do solo rizosférico do arroz em ensaio conduzido em estufas de topo aberto.

Atributo	Testemunha	Estufa	Estufa + CO <sub>2</sub>
pH	6,17b*	6,67ab	6,83a
Condutividade (μS cm <sup>-1</sup> )	46,2	47,1	42,6
Carbono da biomassa (μgC g solo <sup>-1</sup> )	333,57	296,12	285,23
Desprendimento de CO <sub>2</sub> (mgCO <sub>2</sub> 100g <sup>-1</sup> )	44,49	30,42	39,48
Hidrólise de FDA (μ de FDA hidrol. g solo seco <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	2,25	1,88	2,36
Número de bactérias em meio JNFb (Log x = 1)	3,32	2,85	1,93

\*médias seguidas por mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## Referências Bibliográficas

BOEHM, M. J.; HOITINK, H. A. J.; MADDEN, L. V. Microbial activity and biomass in container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. **Phytopathology**, v.82, n.3, p.259-264, 1992.

COTRUFO, M. F; BRIONES, M. J. I.; INESON, P. Elevated CO<sub>2</sub> affects field decomposition rate and palatability of tree leaf litter: importance of changes in substrate quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v.30, p.1565-1571, 1998.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília: Embrapa - SPI; Itaguaí, RJ: Embrapa-CNPAB, 60p., 1995.

FRIGHETTO, R.T.S. Análise da biomassa microbiana em carbono: método de fumigação extração. In: FRIGHETTO, R.T.S., VALARINI, P.J. (Coords). **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.157-166. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 21).

GHINI, R.; MENDES, M. D. L.; BETTIOL, W. Método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) como indicador de atividade microbiana no solo e supressividade a *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.3/4, p.239-242, 1998.

GRISI, B. M. Método químico da medição da respiração edáfica: alguns aspectos técnicos. **Ciência e Cultura**, v. 30, n.1, p. 82-88, 1978.

HODGE, A.; PATERSON, E.; GRAYSTON, S. J.; CAMPBELL, C. D.; ORD, B. G.; KILLHAM, K. Characterisation and microbial utilisation of exudate material from the rhizosphere of *Lolium perenne* grown under CO<sub>2</sub> enrichment. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 30, p.1033–1043, 1998.

IPCC. **Climate change 2007**: The physical science basis: summary for policymakers. Geneva: IPCC, 2007. 18 p. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/SPM2feb07.pdf>>. Acesso em: 3 maio 2007.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**, v.19, n.6, p.703-707, 1987.