

DIVERSIDADE METABÓLICA DE MICRORGANISMOS EM RIZOSFERA DE LINHAGENS E HÍBRIDOS DE MILHO CONTRASTANTES PARA FÓSFORO – CAMPO

Christiane Abreu de Oliveira⁽¹⁾, Ivanildo Evódio Marriel⁽²⁾, Vera Maria Carvalho Alves⁽²⁾, Sidney Neto Parentoni⁽²⁾, Israel A. Pereira Filho⁽²⁾, Robert E. Schaffert⁽²⁾, Maria Rita Scotti Muzzi⁽³⁾, Nadja Maria Horta de Sá⁽³⁾. ⁽¹⁾Bolsista da Comissão Européia/Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, 35701-970, Sete Lagoas, MG, Brasil, ampaiva@netzero.net; ⁽²⁾Embrapa Milho e Sorgo; ⁽³⁾UFMG, Instituto de Ciências Biológicas, 31270-901, Belo Horizonte, MG.

A combinação de práticas de manejo do solo e da biologia deste, associadas ao uso de cultivares eficientes, constituem alternativas importantes para a agricultura sustentável. A diversidade microbiana vem sendo apontada como um bom indicador da qualidade dos solos e de diferenças existentes entre solos de rizosfera de plantas. A tolerância de algumas cultivares aos diversos estresses, entre eles o de fósforo, pode estar relacionada com a presença de microrganismos na rizosfera (Wardle *et al.*, 1992). Há uma contribuição recíproca, ou seja, os microrganismos da rizosfera usam os exsudados de raízes de plantas como fonte de carbono e as plantas são favorecidas pelo metabolismo destes microrganismos (Lynch & Whipps, 1990; Marschner, 1995). Por outro lado, a variedade de compostos orgânicos liberados pelas plantas influencia a diversidade de microrganismos na rizosfera (Grayston & Campbell, 1996). Atualmente, a análise da população de microrganismos vem sendo efetuada através de respostas funcionais múltiplas de toda a comunidade microbiana, ou seja, pela formação de um perfil fisiológico característico de cada amostra (Zak *et al.*, 1994). O sistema BIOLOG, padrão de utilização de diferentes fontes de carbono, tem sido capaz de comparar a diversidade das comunidades microbianas dos solos em diferentes habitats (Garland & Mills, 1991). No entanto, poucos estudos têm investigado a população microbiana rizosférica em cultivares de milho eficientes na adaptabilidade a condições de estresse de fósforo. O objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade metabólica de microrganismos totais da rizosfera de cultivares de milho em ambientes com diferentes disponibilidades de fósforo e em cerrado natural.

Amostras de solo foram coletadas em um latossolo vermelho-escuro fase cerrado, durante o início da fase de florescimento do milho em experimentos de campo instalados na Embrapa Milho e Sorgo, Sete lagoas, MG. O solo rizosférico foi retirado da porção aderida à raiz de híbridos e linhagens provenientes do Programa de Melhoramento da referida instituição, previamente caracterizados como eficientes (E) e ineficientes (I) para fósforo, em locais de plantio convencional cujo teor de fósforo no solo foi de 15mg.dm⁻³ (Mehlich-1) de P (alto P) e 2mg.dm⁻³ (Mehlich-1) de P (baixo P). Os híbridos avaliados foram: HT, HS1, HS2, eficientes e HS3, HS4, ineficientes; as linhagens foram: L3 e L228, eficientes e L22, ineficiente. Coletou-se também as seguintes amostras como testemunhas: solo não rizosférico em baixo fósforo (NR) e em alto fósforo (NRP), solo da

rizosfera do híbrido triplo eficiente em plantio direto (HTPD), solo não rizosférico do plantio direto (NRD) e solo de cerrado natural (Mata). Para determinação da diversidade microbiana, utilizou-se a metodologia descrita por Zak et al (1994). Suspensões de células de microrganismos, extraídas do solo por agitação durante meia hora e centrifugadas a 4000rpm durante 15 minutos, foram inoculadas em ‘Ecoplates’[®] (Biolog, Inc., Hayward, CA, USA). As placas foram incubadas no escuro durante 5 dias a 25°C. A leitura das placas foi efetuada em um leitor de placas (Labstems, MultSkán, MS) em 405nm, nos intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Cada placa continha 31 substratos, ácidos carboxílicos, carboidratos, polímeros, aminoácidos, amidos e o corante indicador violeta tetrazol. Os componentes da diversidade funcional, atividade total, diversidade metabólica (H), utilização de substratos (S), foram estimados de acordo com Zak et al., 1994. Os valores da atividade total foram transformados utilizando-se AWCD (média das leituras dos 31 substratos de cada amostra e repetição) (Garland & Mills, 1991). A análise estatística foi realizada utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado para a análise de variância e teste Tukey para detectar diferenças entre as médias. Os dados de utilização de substratos (S) e atividade total transformada foram utilizados para análise de agrupamento (UPGA- Unweigh Pair-Group Average) e análise de componentes principais (PCA), respectivamente.

A atividade total das reações na presença de diferentes substratos, variou em função do tempo de incubação para os tratamentos analisados (Figura 1). Estudos anteriores mostram que há correlação entre atividade total e densidade de células (Garland & Mills, 1991). Nesse estudo, a partir de 48 horas de incubação, apareceram distinções quanto à população microbiana das rizosferas. De acordo com a Figura 1, para a análise do perfil microbiano, foi escolhida a leitura de 72 horas. Dependendo de sua origem, as comunidades microbianas tiveram perfil distinto de utilização das fontes de carbono. Na Figura 2, pela análise de agrupamento, verifica-se a formação de dois grupos principais, I e II. Em “I” houve um agrupamento da população microbiana proveniente de solos rizosféricos sob alto P. No grupo “II”, se agruparam principalmente a microflora dos solos sob baixo P. A comunidade de microrganismos da rizosfera do HT em plantio direto (HTPD) foi distante da população rizosférica deste híbrido em plantio convencional (HT e HTP). Na Figura 3-A e 3-B, a análise de componentes principais separou melhor os grupos formados anteriormente pelo UPGMA. Em I e II notamos a presença de grupos formados pela microflora de amostras do solo rizosférico de alguns híbridos, HT e HS2 e das linhagens eficientes, L3 e L228, respectivamente, indicando que suas microfloras tiveram utilização semelhante de fontes de carbono, especialmente por terem se agrupado também com a microflora proveniente do solo da mata. Por outro lado, L3, L228 e HT, HS2 formam perfil microbiano totalmente distinto

quando sob alta dose de P. Com relação à utilização de substratos, S, foi possível confirmar que houve diferença entre tratamentos, na utilização de fontes de carbono. A comunidade de

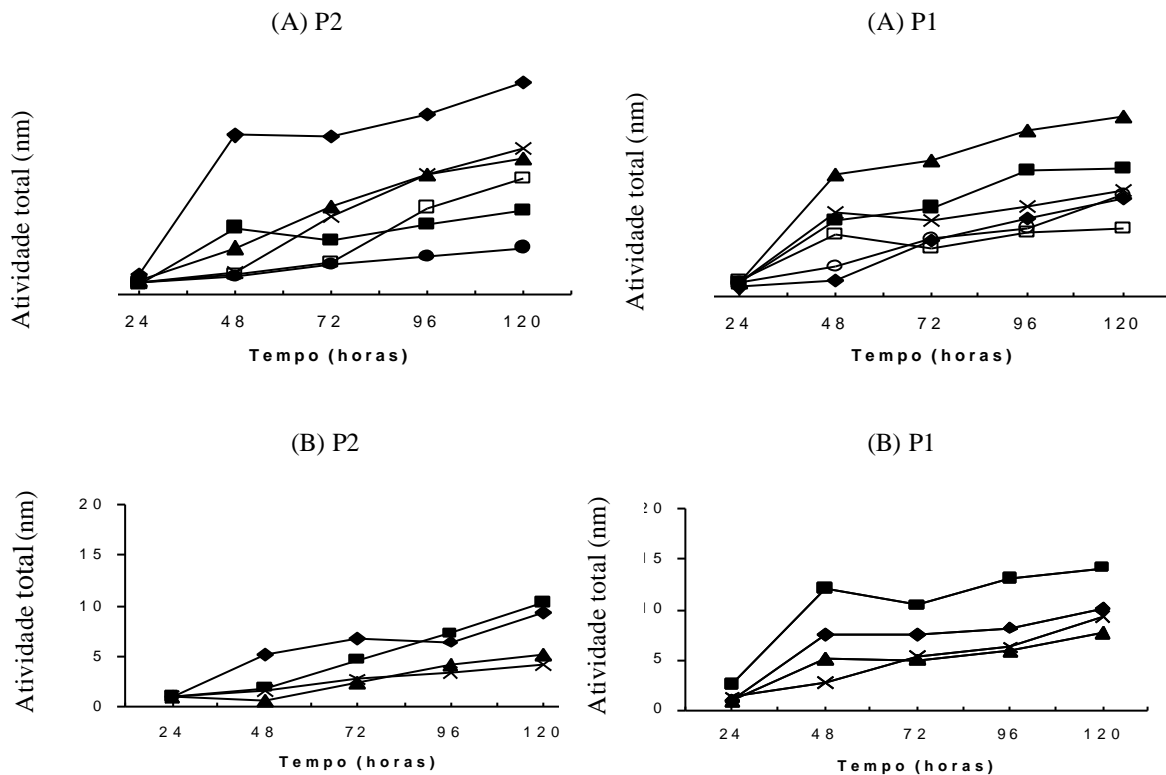


Figura 1. Atividade total em função do tempo de incubação, nos solos de HT ♦, HS1 ■, HS2 ▲, HS3 X, HS4 ●; NRP ○, NR O (A) e L3 ◆, L228 ■, L22 ▲, NRP e NR X (B), em que P2 indica o alto P e P1 o baixo P.

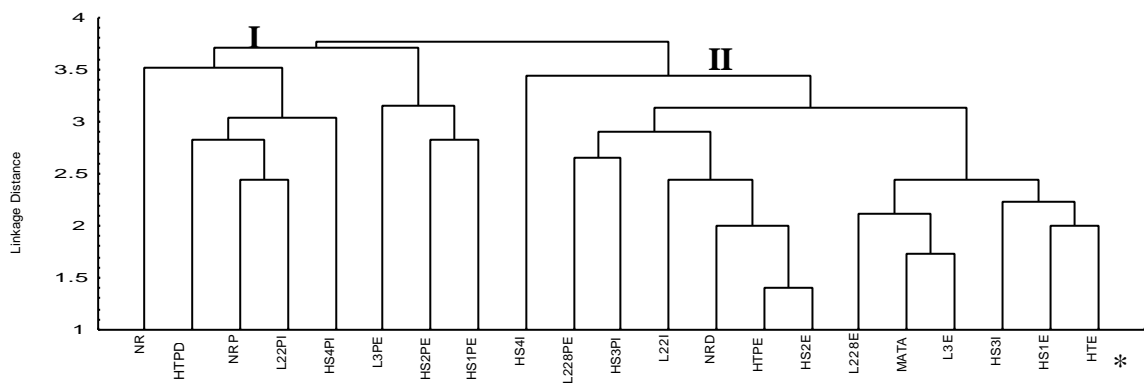


Figura 2. Análise de agrupamento (UPGA) conforme a utilização de substratos (S) em cada tratamento. *A letra "E" após o nome simbolizando eficiência ou "I" ineficiência dos híbridos e linhagens e a letra "P" para os do nível alto de P.

microrganismos rizosféricos de híbridos e linhagens eficientes em baixo P apresentaram maior utilização de ácidos carboxílicos. Entretanto, o outro grupo, formado pelos híbridos e linhagens sob alto P, apresentou maior utilização de carboidratos. A população microbiana pode ter sido favorecida pela exsudação de ácidos destas plantas sob estresse de fósforo. Conforme dados da

Tabela 1, a diversidade microbiana, H, dos solos não rizosféricos foi menor, principalmente sob alto P (Tabela 1). Resultados similares foram os encontrados por Baudoin *et al.* (2001), em

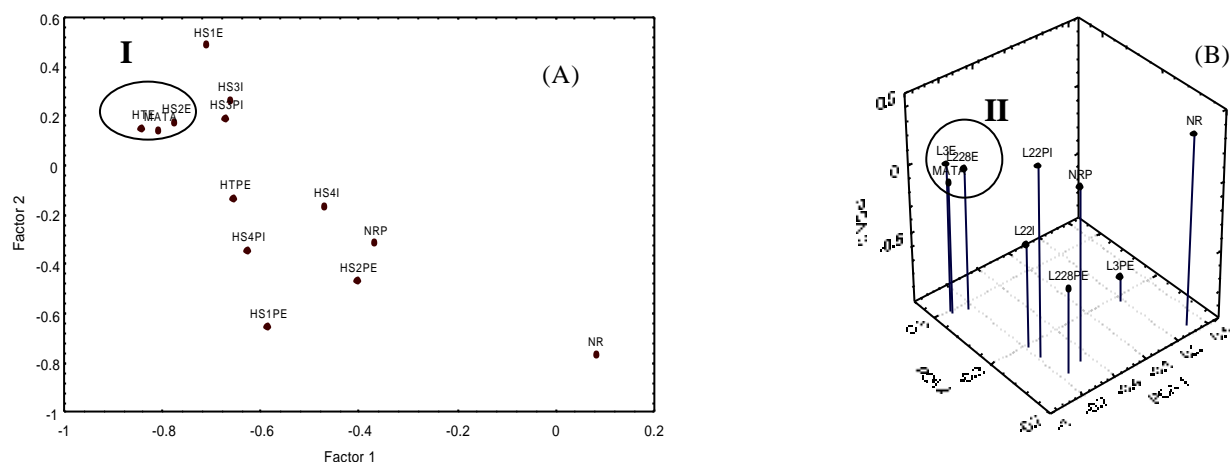


Figura 3. Análise bidimensional dos híbridos (A) e análise tridimensional das linhagens (B) por componentes principais (PCA). A letra “P” após o nome do genótipo indica o nível alto de P.

experimentos com solo rizosférico e não rizosférico de milho. O H encontrado para os tratamentos de genótipos eficientes foi similar ao encontrado para a mata. Isto indica que estes genótipos eficientes estudados apresentam, além de perfil microbiológico semelhante ao da área de cerrado preservada, alta diversidade de microrganismos na rizosfera.

Tabela 1. Diversidade metabólica (H) em 72 horas de incubação para amostras de solo rizosférico de 5 híbridos de milho e 3 linhagens, solo não rizosférico da área de baixo fósforo (NR), de alto P (NRP) e mata¹.

Tratamentos	H	Tratamentos	H
HTP*	3,09a	L3P*	2,42b
HT	2,80a	L3	2,74a
HS1P*	2,33b	L228P*	2,70a
HS1	2,81a	L228	2,80a
HS2P*	2,77a	L22P*	2,00b
HS2	2,98a	L22	2,57a
HS3P*	2,67a	NRP*	1,93b
HS3	2,74a	NR	2,38b
HS4P*	2,28b	Mata	2,90a
HS4	2,25b		

¹ médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey de médias, p<0,05. *solo em nível alto de P

BAUDOIN, E.; BENIZRI, E.; GUCKERT, A. Metabolic fingerprint of microbial communities from distinct maize rhizosphere compartments. **European Journal of Soil Biology**, 37: 85-93, 2001.

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.

LYNCH, J.M.; WHIPPS, J.M. Substrate flow in the rhizosphere. **Plant and Soil**, 129:1-10, 1990.

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.