

QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS CELULOLÍTICOS EM SOLOS DE TRÊS ECOSISTEMAS

Daniel Gusmão Coêlho

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Agronomia, CECA, UFAL BR 104 NORTE KM 85 - MATA DO ROLO - 57100-000 - Rio Largo, AL – Brasil E-mail: daniel_gusmão@hotmail.com

Tânia Marta Carvalho dos Santos

Profa. Dra. CECA, UFAL Universidade Federal de Alagoas UFAL BR 104 NORTE KM 85 - MATA DO ROLO - 57100-000 - Rio Largo, AL – Brasil E-mail: tmc@ceca.ufal.br

Ludmilla Santos de Albuquerque

Universidade Federal da Paraíba Estudante de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água UFPB/CCAA. AREIA – PB
E-mail: ludmilla_agro@hotmail.com

Vinícius Batista Campos

Universidade Federal da Paraíba Estudante de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água UFPB/CCAA. AREIA – PB
E-mail: viniciuspmsa@hotmail.com

Stella da Silva Prazeres

Estudante de Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq/UFPB /CCAA. AREIA – PB E-mail: starprazer@hotmai.com

RESUMO --- O presente trabalho teve como objetivo quantificar os fungos celulolíticos de solos em três ecossistemas específicos: um ambiente nativo (reserva florestal da Frascalli, Maceió-AL), um de intensa exploração canieira (*Saccharum officinarum*) e um de reflorestamento com sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*). Os experimentos foram realizados no laboratório de microbiologia agrícola da Universidade federal de Alagoas. As amostras foram coletadas a uma profundidade entre 0-20 cm nos três ecossistemas. Os isolamentos foram feitos pelo método das diluições em série e semeadura em meio seletivo para fungos celulolíticos. Para determinação do número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi utilizada a tabela de número mais provável (NMP). Pelos resultados obtidos observou-se que o número de unidades formadoras de colônia foi igual nos três ecossistemas.

Palavras-chave: Colônias, mata nativa, cana-de-açúcar

QUANTIFICATION OF CELLULOLYTIC FUNGI IN SOIL OF THREE ECOSYSTEMS

ABSTRACT --- Had as objective to quantify the celulolytic fungi of ground in three specific ecosystems: a native environment (forest reserve of the Frascalli, Maceió-AL), one of intense sugar cane crop exploration (*Saccharum officinarum*) and one of reforestation with *Mimosa caesalpinifolia*. The experiments had been carried through in the laboratory of agricultural microbiology of the Federal University of Alagoas, Alagoas State. Samples had been collected to a depth enter 0-20 cm in three ecosystems. The isolamentos had been made by the method of the dilutions in series and sowing in selective way for celulolíticos fungos. For determination of the number formadoras units of colonies (UFC) the table of most likely number was used (NMP). For the gotten results it was observed that the number of formadoras units of colony was equal in three ecosystems.

Key Words: Colonies, native environment, sugar cane crop

INTRODUÇÃO

A celulose é considerada como uma das únicas fontes renováveis de carbono, além de ser disponível em grandes quantidades em resíduos celulósicos, representando mais de 60% dos resíduos agrícolas. Estima-se que a produção anual de celulose atinja a casa dos 100 bilhões de toneladas. A celulose é hidrolisada enzimaticamente pela celulase, que não corresponde a uma única enzima, mas a ação sinérgica de endoglucanases e exoglucanases sintetizadas

por microrganismos (BAYER e LAMED, 1992; VALENZUELA et al., 2001).

Existe uma grande variedade de microrganismos que sintetizam a celulase, no entanto apenas alguns são considerados como verdadeiros celulolíticos, ou seja, são realmente capazes de degradar a celulose. Os microrganismos são estimulados por exsudatos e tecidos radiculares destacados, sendo este efeito mais pronunciado para as bactérias, podendo a população bacteriana na zona rizosférica atingir valores superiores a cem vezes ao

encontrado em zonas não-rizosféricas. O efeito rizosférico varia com a espécie vegetal, sendo o das leguminosas, geralmente, mais pronunciado por unidade de superfície de raiz. Esse fato deve estar relacionado à menor relação C/N das excreções das plantas dessa família, o que facilita sua utilização pelos microorganismos. No entanto, as gramíneas, apesar das excreções com relação a C/N maiores, possuem um sistema radicular mais denso e de renovação mais intensa, que o das leguminosas (LYNCH, 1984; KOLB e MARTIN, 1988). Esse efeito é maior em pastagens perenes do que em culturas anuais.

A população microbiana é grandemente influenciada pelo manejo e pela cobertura vegetal do solo, sendo cada grupo afetado de forma seletiva. Os solos submetidos ao plantio direto ou preparo reduzido apresentam um acúmulo superficial de resíduos orgânicos e nutrientes minerais, possibilitando a formação de uma camada de alguns centímetros muito favorável ao desenvolvimento microbiano. Com aumento da profundidade, as condições tornam-se adversas e a população diminui. No preparo convencional, onde a aração é feita até 20 cm em média, ocorre uma incorporação mais uniforme dos resíduos resultando numa distribuição mais homogênea da população microbiana na camada arável (GAO et al., 2008).

Considerando-se que os microorganismos constituem excelente indicador das condições biológicas do solo, além de seu efeito sobre a produtividade agrícola, torna-se importante o conhecimento do manejo do solo e da cobertura vegetal sobre a população microbiana (RUEGGER & TAUKE-TORNISIELO, 2004).

Dentro desse contexto o objetivo de trabalho foi quantificar os fungos celulolíticos de solos em três

ecossistemas específicos: um ambiente nativo (reserva florestal da Frascalli), um de intensa exploração canavieira (*Saccharum officinarum*) e um de reflorestamento com sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*) localizados na cidade de Rio Largo – AL.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL, localizado no município de Rio Largo - AL, este está situado a 9°27'59" de latitude S, 34°50'11" longitude W e de 127m de altitude. Segundo Golfari & Caser (1977), o clima é caracterizado como tropical chuvoso, quente e úmido, com estação seca no verão e chuvas de outono/inverno, é a do tipo As' conforme a classificação de Köppen. A área encontra-se inserida em região com temperatura média anual entre 20 e 27°C, com precipitação média anual entre 1500 e 2300 mm, umidade relativa variando entre 78 e 90%, solo classificado como podzólico, textura moderadamente argilosa, relevo plano e pH 5,6. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Foram realizadas coletas em três áreas descritas a seguir: a primeira, com mata natural; na segunda a mata natural foi retirada em 1969 quando então foi introduzida a cultura da cana-de-açúcar e a terceira a mata natural foi retirada em 1969 ficou descoberta até 1998 quando foi feito o reflorestamento com sabiá (Figura 1).

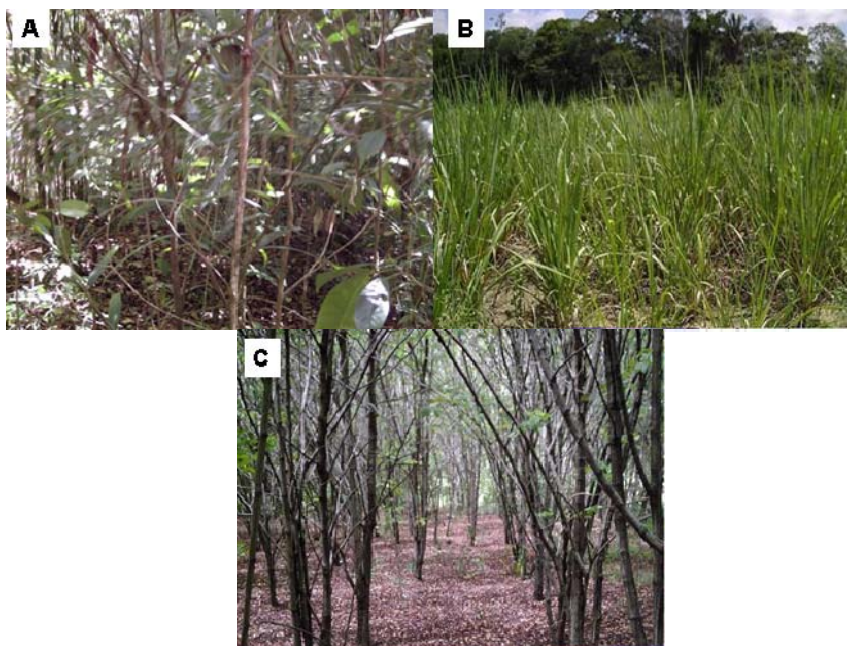


Figura 1. Ecossistemas utilizados para coleta do solo: Mata nativa (A), área de cultivo de cana-de-açúcar (B) e área de reflorestamento com sabiá.

As amostras foram coletadas em “zig-zague”, a profundidade de 0-20 cm, acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e levadas ao laboratório. No laboratório realizou-se o peneiramento (abertura = 4 mm), e a retirada manual de raízes e restos vegetais, em seguida o material peneirado foi armazenado em temperatura de 4°C permanecendo assim por 7 dias. Depois as amostras foram incubadas à temperatura de 25° a 29° C permanecendo nesta por mais 8 dias. De cada amostra composta foi retirada uma sub-amostra de 10g, que foi suspensa em 90 ml de solução salina esterelizada. Após agitação foram feitas diluições em série.

As diluições em série foram de 10-1 a 10-3 foram transferidas alíquotas de 1,0 ml para tubos de ensaio contendo 9,0 ml de meio líquido para organismos celulolíticos, segundo método de BOSE (1963). Em cada tubo foi colocado uma tira de papel de filtro esterilizado medindo 7,0 x 1,0 cm de modo que atira ficou em média a 2,0 cm acima do nível do meio. As culturas foram incubadas na sala de câmara de fluxo a 28°C por 37 dias. A estimativa do número de células viáveis foi feita por meio da utilização de tabela do número mais provável. As diluições em série foram de 10-1 a 10-3 foram transferidas

alíquotas de 1,0 ml para tubos de ensaio contendo 9,0 ml de meio líquido para organismos celulolíticos, segundo método de BOSE (1963). Em cada tubo foi colocado uma tira de papel de filtro esterilizado medindo 7,0 x 1,0 cm de modo que atira ficou em média a 2,0 cm acima do nível do meio. As culturas foram incubadas na sala de câmara de fluxo a 28°C por 37 dias. A estimativa do número de células viáveis foi feita por meio da utilização de tabela do número mais provável.

Foi utilizada um meio de cultivo para crescimento de microrganismos celulolíticos contendo 0,5 g de NaNO₃, 1,0 g de K₂HPO₄, 0,5 g de KCl e 0,5 g de MgSO₄, completando o volume para 1000 mL de água destilada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos resultados obtidos (Tabela 1) observa-se que o número de unidades formadoras de colônias foi igual nos três ecossistemas. Nos ecossistemas estáveis como em solo sob mata existe uma tendência da comunidade microbiana ser maior numericamente e em termos de diversidade Cardoso (1992).

Tabela 1. Número mais provável (NMP), probabilidade de ocorrência e limites de intervalos de confiança (IC) para 95% de unidades formadoras de fungos celulolíticos em solo, sob: Mata, Cultivo de Cana de Açúcar e Reflorestamento com Sabiá.

Ecossistemas	NMP (UFC x 10 ³)	Probabilidade (%)	IC MÍNIMO	IC MÁXIMO
Cana de Açúcar	109,849	44,442	38,227	478,767
Mata Nativa	109,849	44,442	38,227	478,767
Reflorestamento com Sabiá	109,849	44,442	38,227	478,767

Nos agroecossistemas as mudanças significativas e perceptíveis na comunidade microbiana também estão relacionadas com as condições ambientais, sendo consequência principalmente do uso e das práticas de manejo do solo. A combinação das práticas agrícolas aplicadas durante vários anos de cultivo é importante para o equilíbrio microbiológico, pois o manejo (preparo e fertilização do solo, tipo de cultura e época de plantio) é determinante para o desenvolvimento de micro-habitats específicos, resultando na alteração do equilíbrio dinâmico, através de modificações nos processos microbiológicos, fisiológicos e bioquímicos específicos. Nestes casos, as relações entre os componentes da comunidade microbiana passam a ser dependente das novas circunstâncias do meio (ATLAS et al., 1991).

Resultados obtidos por Melonni et al. (2001), trabalhando com solo sob mata ciliar e campo de cerrado verificaram uma tendência da comunidade de celulolíticos

ser maior no solo sob mata, no entanto, não detectaram diferenças numéricas significativas entre os mesmos.

Cattelan & Vidor (1990) estudando a população microbiana em vários sistemas de cultivo, verificaram que o solo descoberto apresentou um número maior de fungos celulolíticos que em campo nativo e em repouso.

Nos sistemas permanentes, o aporte de nutrientes ao solo é contínuo e as condições estáveis. Assim as oscilações na população são mínimas.

No solo sob cultivo de cana-de-açúcar, apesar do solo ficar descoberto no período de corte à rebrota, espécies com maior capacidade de esporular podem ter sido favorecidas pelas suas maiores possibilidades de sobrevivência durante os períodos adversos e a eliminação de grupos antagonistas e competidores, enquanto que à mata não houve tal pressão de seleção.

O solo sob reflorestamento estudado no presente trabalho está coberto há 10 anos com o sabiá. Em casos de

alterações ambientais de grande magnitude a microbiota passa por uma fase de adaptação que pode durar semanas, meses ou anos.

Deve-se salientar, no entanto, que a simples numeração de fungos celulolíticos não garante que os mesmos estejam

decompondo a celulose no solo, mas, sim que apresentam a habilidade de produzir celulase em ambiente rico em celulose.

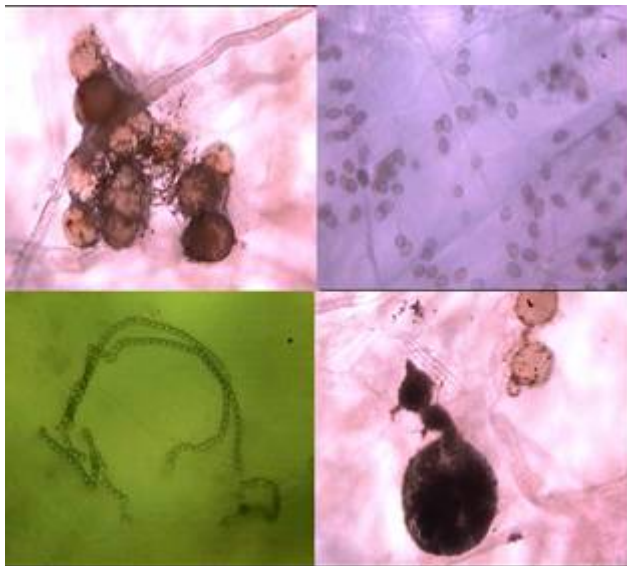


Figura 2. Microestruturas de fungos celulolíticos isolados de solo sob mata

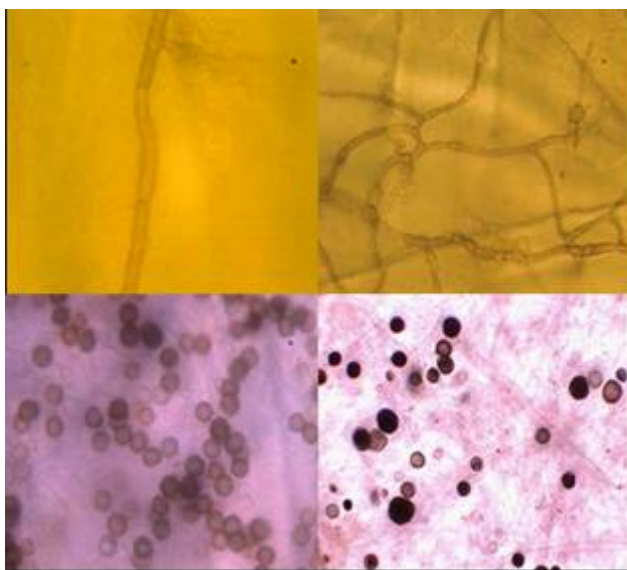


Figura 3. Microestruturas de fungos celulolíticos isolados de solo cultivado com cana-de-açúcar

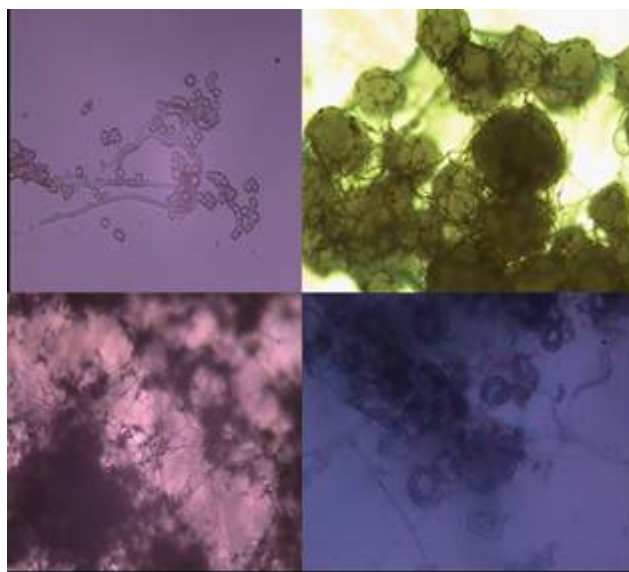


Figura 4. Microestruturas de fungos celulolíticos isolados de solo de reflorestamento com sabiá

CONCLUSÕES

Apesar da diferente composição vegetal da cobertura nos ecossistemas estudados, o número de unidades formadoras de colônias de fungos celulolíticos entre os mesmos não diferiu.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATLAS, R.M.; HOROWITZ, A.; KRICHEVSKY, M.; BEJ, A.K. Response of microbial populations to environmental disturbance. *Microbial Ecology*, New York, v.22, p.249-256, 1991.
- BAYER, E.A.; LAMED, R. **The cellulose paradox:** pollutant par excellence and or a reclaimable natural resource: *Biodegradation*. 3: p.171-188, 1992.
- CARDOSO, E.J.B.N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P., (Ed.). **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.33-39, 1992.
- CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.14, n.2, p.125-132, 1990.
- KOLB, W.; MARTIN, P. Influence of nitrogen on the number of N₂ fixing and bacteria in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemical*, Oxford, 20: p.221-225, 1988.
- LYNCH, J.M. Interactions between biological processes cultivation and soil structure. *Plant Soil*, The Hague, 76: p.307-318, 1984.
- MELLONI, R.; PEREIRA, E.G.; TRANNIN, I.C.B.; SANTOS, D.R. dos; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Características biológicas de solos sob mata ciliar e campo cerrado no sul de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.25, p.7-13, 2001.
- RUEGGER, M. J. S.; TAUKE-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica, São Paulo*, v. 27, n. 2, p. 205-211. 2004.
- VALENZUELA, E.; LEIVA, S.; GODOY, R. Variación estacional y potencial enzimático de microhongos asociados com la descomposición de hojarasca de *Nothofagus pumilio*. *Revista Chilena de Historia Natural*, Santiago, v. 74, n. 4. 2001.