



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

**ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E FLUXO DE GASES DE EFEITO ESTUFA EM SOLO
CULTIVADO COM CANA DE AÇÚCAR.**

Tatiane Oliveira de **Souza**^{1a}; Adriana Parada Dias da **Silveira**^{1b}; Régia Maria Reis **Gualter**^{1c};
Vitor Paulo **Vargas**^{1d}; Heitor **Cantarella**^{1e}.

¹ Instituto Agrônômico (IAC) - Centro de Solos e Recursos Ambientais

Nº13136

RESUMO - Os microrganismos do solo apresentam papel fundamental na dinâmica estrutural e funcional do ambiente solo. Entretanto, as atividades antrópicas, que resultam principalmente no uso e manejo inadequado do solo, têm modificado a estrutura desses organismos, alterando principalmente o fluxo de gases de efeito estufa (GEE) do solo, que tem aumentado de forma significativa. A cultura da cana-de-açúcar, bastante intensa no estado de São Paulo, ainda foi pouco estudada em relação à atividade da microbiota que participa do processo de emissão dos GEE. Assim, o objetivo do projeto foi avaliar os atributos microbiológicos - carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, respiração basal, quantificação de comunidades específicas de microrganismos (amonificadores, nitrificadores, nitratores), relacionando-os à emissão de N_2O e CO_2 , em solo cultivado com cana de açúcar. Foram realizadas amostragens de solo em dois experimentos, localizados nos municípios de Piracicaba e Jaú, SP, em tratamentos com e sem aplicação de nitrogênio, amostrados nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm. Entre os atributos microbiológicos avaliados, a respiração basal foi o indicador mais sensível em relação à mudança na profundidade, nas áreas de Piracicaba e Jaú. As emissões de N_2O e CO_2 relacionaram-se principalmente com o nitrogênio da biomassa microbiana, quando houve adição de N ao solo, em ambas as áreas.

Palavras-chaves: microbiota do solo, atividade microbiana, biomassa microbiana, N_2O , CO_2 .

^a Bolsista CNPq/PIBIC: Graduação em Ciências Biológicas, PUCC, Campinas-SP, tatyoliveira-2009@hotmail.com. ^b Orientadora: Pesquisadora, Centro de Solos e Recursos Ambientais, IAC, apdsil@iac.sp.gov.br. ^c Doutoranda: Agricultura Tropical e Subtropical, IAC, regiagualter@yahoo.com.br. ^d Doutorando- bolsista FAPESP: Agricultura Tropical e Subtropical, IAC, vitorpvargas@hotmail.com. ^e Pesquisador: Centro de Solos e Recursos Ambientais, IAC, cantarella@iac.sp.gov.br.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

ABSTRACT – *Soil microorganisms play an important role in the structural and functional dynamics of soil environment. However, human activities, which may result in unsuitable soil use and management, have modified the structure of these organisms and therefore changed the flow of greenhouse gases (GHG) from the soil, which has increased significantly. The sugar cane crop, quite intense in São Paulo state, has been little studied in relation to soil microbiota activity that is related to GHG emission. The objective of the project was to evaluate the microbiological attributes - microbial biomass carbon and nitrogen, basal respiration, amount of specific microorganisms communities (ammonifying and nitrifying), relating them to N_2O and CO_2 emission in soil under sugarcane cultivation. Soil samples were collected in two experiments, conducted in Jau and Piracicaba, SP, in treatments with and without nitrogen fertilization, sampled at 0-10 cm and 10-20 cm depth. Microbial respiration was the most sensitive indicator in relation to depth changing in Piracicaba and Jau. N_2O and CO_2 emissions were mainly related to microbial biomass nitrogen when N was added to the soil, in both areas.*

Keywords: *soil microbiota, microbial activity, microbial biomass, N_2O , CO_2*

1 INTRODUÇÃO

A cana de açúcar atualmente é considerada a cultura com maior percentual de crescimento em área cultivada no Brasil, devido à produção de açúcar e à demanda mundial por biocombustíveis. Entretanto, apesar de sua reconhecida importância, são escassos os estudos que visam avaliar os seus efeitos do cultivo intenso da cana sobre a emissão de gases de “efeito estufa” (GEE).

A alteração na concentração dos GEE poderá desencadear um aumento da temperatura média no planeta em até 5,8°C nos próximos cem anos, de acordo com o Painel Internacional de Mudanças Climáticas - IPCC (2007), sendo que os níveis de CO_2 tiveram aumentos consideráveis a partir da Revolução Industrial.

O fluxo de GEE em plantios de cana-de-açúcar ainda é desconhecido, principalmente em relação ao CO_2 , CH_4 e N_2O . As emissões mais importantes de N_2O são esperadas pela aplicação no solo de fertilizantes nitrogenados e tortas, pois em geral 1% dessas fontes de nitrogênio utilizadas é emitida na forma de N_2O (Soares et al., 2009). A liberação do óxido nitroso (N_2O) está associada às áreas agrícolas devido à adubação nitrogenada e aos processos de nitrificação e desnitrificação nos solos. A nitrificação, oxidação de amônio (NH_4) para nitrito, requer condições aeróbias e é dependente do suprimento de amônio, sendo promovida por bactérias autotróficas. O mecanismo de formação de N_2O pela nitrificação ainda não está totalmente esclarecida (Khalil et al., 2004).



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Os microrganismos do solo atuam no processo de decomposição da matéria orgânica, participando diretamente do ciclo de Carbono (C) e Nitrogênio (N) e possuindo a capacidade de responder rapidamente a mudanças na qualidade do solo.

A biomassa microbiana do solo funciona como importante reservatório de vários nutrientes para plantas (Grisi e Gray, 1986), pois pertence aos componentes instáveis da matéria orgânica do solo, e possui grande atividade, principalmente enzimática, influenciada pelas condições bióticas e abióticas, sendo assim um indicador biológico das alterações de manejo do solo. A relação entre a quantidade de CO₂ liberado pela respiração por unidade de biomassa, denominada quociente metabólico ou respiratório (q_{CO_2}), indica a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o carbono disponível para biossíntese, sendo sensível indicador para estimar a atividade biológica e a qualidade do solo. A atividade de enzimas relacionadas à ciclagem de nutrientes também mostra o nível de atividade da microbiota do solo.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar os atributos microbiológicos - carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, respiração basal, quantificação de comunidades específicas de bactérias (amonificadores, nitritadores, nitratores) e relacioná-los à emissão de N₂O e CO₂, em solo sob cultivo de cana de açúcar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas amostragens de solo em dois experimentos localizados nos municípios de Piracicaba e Jaú-SP, em tratamentos com e sem aplicação de nitrogênio, nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm, com quatro repetições. As amostragens de solo foram realizadas em outubro de 2012 e janeiro de 2013 nos municípios de Piracicaba e Jaú-SP, respectivamente.

Determinou-se o carbono da biomassa microbiana (cbm) pelo método de fumigação-extração (Vance et al., 1987). A amostra de solo foi dividida em duas sub-amostras, uma das quais foi fumigada com clorofórmio (CHCl₃) livre de etanol, eliminando-se os microrganismos vivos, e a outra, mantida ao natural. O carbono microbiano (CM) foi extraído com K₂SO₄ 0,5 mol L⁻¹ e oxidado com K₂Cr₂O₇. A liberação de CO₂ (respiração basal do solo) foi quantificada de acordo com o método de Alef (1995), onde foi realizada titulação do NaOH livre com HCl 0,1 mol L⁻¹, permitindo a quantificação, por subtração, da quantidade de CO₂ que reagiu com o NaOH (Anderson e Domsch, 1996).

Para a estimativa da densidade populacional das comunidades microbianas de amonificadores e nitrificadores foi utilizado o método do número mais provável (NMP), estimando-se o número



de células viáveis dos microrganismos (amonificadores, oxidantes do amônio e oxidante do nitrito), segundo Andrade et al. (1994).

A quantificação da emissão dos gases CO_2 e N_2O foi realizada por cromatografia gasosa.

Para demonstrar a heterogeneidade espacial dos tratamentos estudados, foram realizadas análises de gradiente indireto no programa CANOCO® versão 4.5 (Ter Braak e Smilauer, 2000). A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para determinar relações entre os atributos microbianos (CBM, NBM, C/N, RES, $q\text{CO}_2$, AMO, NITRI, NITRA) e os respectivos tratamentos (com e sem adubação nitrogenada) nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm e relações com a emissão de GEE.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em Piracicaba-SP, a análise de componentes principais (PCA) mostrou diferença no efeito da adubação nitrogenada e da profundidade, explicando 66,9% da variabilidade dos dados, sendo que a profundidade explicou melhor essa variação. Verificou-se que a profundidade de 10-20 cm e adubação nitrogenada de 150 kg ha^{-1} relacionaram-se entre si. Considerando-se as variáveis de resposta, que são os dados microbiológicos, foi observado que os microrganismos AMO e NITRA mostraram relação com a profundidade de 10-20 cm, enquanto que a RESP, o NBM, o $q\text{CO}_2$ e os NITRI relacionaram-se com a profundidade de 0-10 cm (Figura 1).

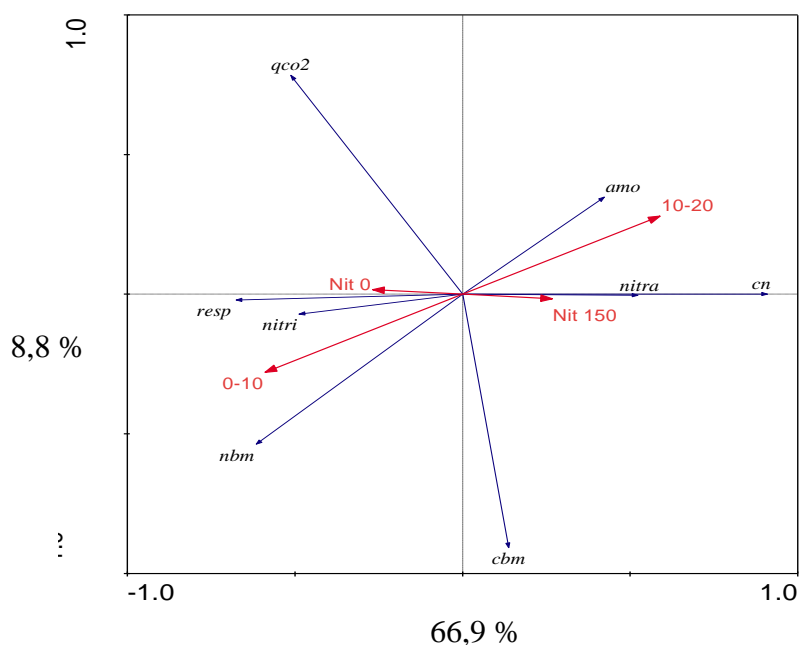


Figura 1: Análise de componentes principais dos indicadores microbiológicos avaliados em solo sob cultivo de cana-de-açúcar em Piracicaba-SP. Adubação nitrogenada: Sem (NIT 0) e com (NIT 150) ; Profundidades: (0-10) e (10-20); variáveis microbiológicas: respiração basal (RESP), carbono da biomassa microbiana (CBM), quociente metabólico ($q\text{CO}_2$), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), NMP de amonificantes (AMO), nitrificadores (NITRI) e nitrificadores (NITRA).



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Em Jaú, foi observado pela PCA que o eixo 2 explicou 42,5% da variabilidade dos dados, sendo que a adubação nitrogenada melhor explicou essa variação. Quanto às variáveis microbiológicas, foi observado que a RESP, o NBM, o qCO_2 e os microrganismos NITRA se relacionaram com a adubação de 150 kg ha^{-1} de N, enquanto que a relação C/N, o CBM, e os organismos NITRI relacionaram-se com o tratamento sem nitrogênio.

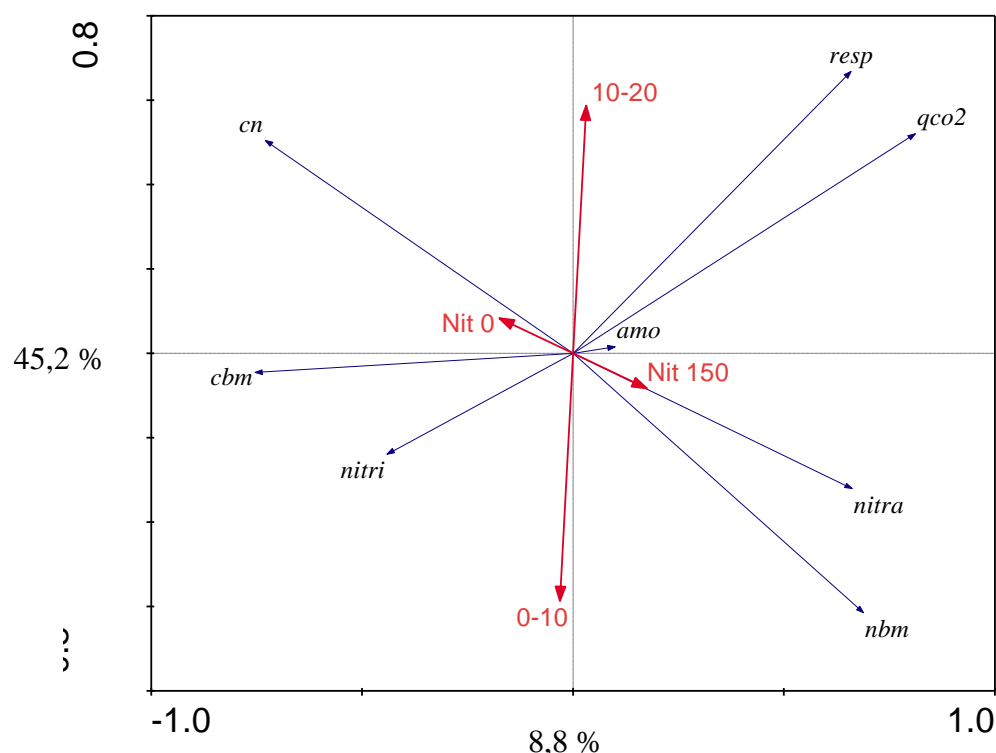


Figura 2: Análise de componentes principais dos indicadores microbiológicos avaliados em solo sob cultivo de cana-de-açúcar, em Jaú-SP. Adubação nitrogenada: Sem (NIT 0) e com (NIT 150); Profundidades: (0-10) e (10-20); variáveis microbiológicas: respiração basal (RESP), carbono da biomassa microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO_2), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), NMP de amonificantes (AMO), nitritadores (NITRI) e nitratadores (NITRA).

Em Piracicaba-SP, foi observado pela PCA que o eixo 2 explicou 52 % da variabilidade dos dados. Em relação às variáveis microbiológicas, foi observado que o NBM relacionou-se com o N_2O , CO_2 e com a adubação de 150 kg ha^{-1} de N, enquanto que a relação C/N relacionou-se com o tratamento sem nitrogênio. Já em Jaú-SP, foi observado que o eixo 2 explicou 25,8 % da variabilidade dos dados, mostrando que o CBM, o NBM e orga-



nismos AMO relacionaram-se com o N_2O , CO_2 no tratamento com adubação nitrogenada, enquanto que o qCO_2 relacionou-se com o tratamento sem nitrogênio.

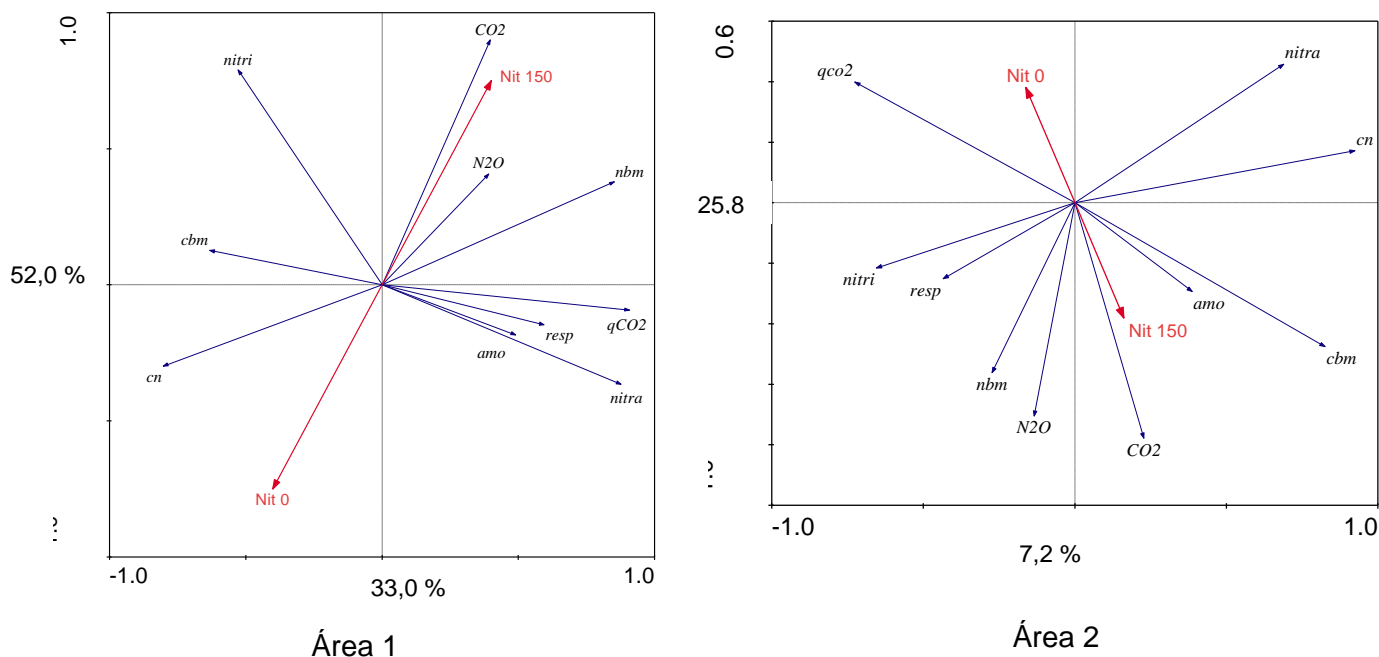


Figura 3: Análise de componentes principais dos indicadores microbiológicos avaliados em solo sob cultivo de cana-de-açúcar- Área 1: Jaú-SP; Área 2: Piracicaba-SP. Adubação nitrogenada: Sem (NIT 0) e com (NIT 150); variáveis microbiológicas: respiração basal (RESP), carbono da biomassa microbiana (CBM), quociente metabólico (qCO_2), nitrogênio da biomassa microbiana (NBM), relação C/N (CN), NMP de amonificantes (AMO), nitritadores (NITRI) e nitratadores (NITRA) e fluxo de gases (CO_2 e N_2O).

4-CONCLUSÕES

A Respiração Basal foi o indicador mais sensível em relação à mudança na profundidade, nas áreas de Piracicaba e Jaú.

As emissões de N_2O e CO_2 relacionaram-se principalmente com o nitrogênio da biomassa microbiana, quando houve adição de N ao solo, em ambas as áreas.

5- AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida. À FAPESP pelo auxílio (Projeto BIOEN – 2008/56147-1) e bolsa de doutorado. Ao Instituto Agrônomo pela oportunidade de estágio.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

6- REFERÊNCIAS

- ALEF, K. **Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry**. New York: Academic Press, 1998. p.193-262.
- ANDERSON, J.P.E.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 25, p. 393-395, 1996.
- ANDRADE, D. S.; MIYAZAWA, M.; HAMAKAWA, P. J. **Microorganismos amonificadores**. In: Hungria, Mariângela; Araújo, Ricardo. Manual de Métodos Empregados em Estudos de Microbiologia Agrícola. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 355-359.
- ARAÚJO, A.S.F.; MONTEIRO, R.T.R. **Indicadores Biológicos de Qualidade do Solo**. Bioscience Journal, v.23, n.3, p.66-75, 2007.
- DICK, R. P. **Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health**. In: PANKHURST, C.; DOUBE, B.; GUPTA, V. (Ed.) **Biological Indicators of Soil Health**. Wallingford: CAB International, 1997. p. 121-156.
- GRÉGGIO, T.C.; NAHAS, E. Atividade enzimática do solo sob dois fragmentos florestais. **Científica**, v.35, n.2, p.179 - 187, 2007.
- GRISI, B.M. & GRAY, T.R.G. Comparação dos métodos de fumigação, taxa de respiração em resposta à adição de glicose e conteúdo de ATP para estimar a biomassa microbiana do solo. **R. Bras. Ci. Solo**, 10:109-115, 1986.
- KHALIL, K; MARY, B.; RENAULT, P. Nitrous oxide production by nitrification and denitrification in soil aggregates as affected by O₂ concentration. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 4, p. 687-699, 2004.
- LADD, J. N. & BUTLER, J. H. A. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and derivatives as substrates. **Soil Biology & Biochemistry**, 4: 19-30, 1972.
- PAREDES, J.F.P.; PORTILHO, I.I.R.; WENDLAND, S.B.; MERCANTE, F.M. Atributos microbiológicos de um solo cultivado com cana de açúcar com e sem queima da palhada, 2011 - **Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**, 33., 2011, Uberlândia.
- PUPIN, B. **Propriedades microbiológicas do solo alteradas por compactação**, 2008. dissertação (Mestrado em Agronomia - área de concentração em Microbiologia Agropecuária.). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, campus de Jaboticabal. disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/m/3462.pdf>>. acesso em: 01 jul.2013.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

SILVEIRA, A. O. **Avaliação de metodologias para o monitoramento da qualidade do solo**, 2011. tese (doutorado em Ciência do Solo) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em:< <http://www.ufrgs.br/agronomia/materiais/anolisil.pdf> >. Acesso em: 01 jul.2013.

SOARES, L.H.B.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. **Mitigação das emissões de gases efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil**. Circular Técnica, 27. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.

TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 1, p.301-307, 1969.