



A fertilidade do solo afeta as relações mutualísticas entre *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae) e bactérias fixadoras de nitrogênio?

Thiago Pereira, Fernando Rossine, Juarez Cabral & Renata Vaz

RESUMO: Plantas da família Fabaceae possuem nódulos em suas raízes que facilitam a fixação do nitrogênio por meio de uma associação mutualística com bactérias fixadoras de nitrogênio. Entretanto, não está claro se essa associação é influenciada pela disponibilidade de nutrientes no solo. Nossa hipótese é que quanto maior a disponibilidade de nitrogênio, menor será a associação com as bactérias. Em uma área de restinga, coletamos raízes de 13 indivíduos de *Dalbergia ecastophyllum* e amostras de serapilheira sob a copa de cada planta, que foi nossa variável operacional para a quantidade de nitrogênio disponível no solo. Analisamos a relação entre a densidade de nódulos nas raízes e a massa de serapilheira e não encontramos relação entre essas duas variáveis. A partir desse resultado, propomos um modelo teórico no qual a associação mutualística responde à fertilidade do solo apenas a partir de um limiar.

PALAVRAS-CHAVE: condições abióticas, nitrogênio, nódulos, restinga, *Rhizobium*, serapilheira

INTRODUÇÃO

Mutualismo é uma relação interespecífica na qual há uma exploração recíproca em que cada organismo envolvido usufrui de benefícios líquidos (Begon *et al.*, 2006). Portanto, pode haver conflitos em uma interação mutualística e os benefícios, em geral, dependem das condições e recursos disponíveis (Begon *et al.*, 2006). Uma interação mutualística bem conhecida é a associação de bactérias fixadoras de nitrogênio em raízes de plantas da família Fabaceae. Nessa associação, as bactérias vivem em nódulos nas raízes e fornecem nitrogênio assimilável para a planta em troca de carboidrato (Larcher, 1986). Embora as bactérias possam viver livremente no ambiente, a associação mutualística oferece benefícios para as bactérias, pois a planta é uma fonte abundante de carboidratos (Evans, 1989).

Mesmo sendo benéfica, a associação mutualística entre muitas espécies da família Fabaceae e bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rhizobium* pode ser conflituosa (Larcher, 1986). Plantas da família Fabaceae podem adquirir nitrogênio de duas formas: assimilando diretamente o que está disponível no solo ou através da fixação do nitrogênio disponível no ar por bactérias fixadoras presentes nos nódulos (Larcher, 1986). O custo para aquisição de nitrogênio pela fixação pelas bactérias é mais alto para a planta do que a assimilação direta do solo (Lüttge, 1997), pois a planta transfere de 1/3 a 2/3 dos carboidratos para as raízes para suprir os custos dos nódulos (Larcher, 1986). Assim, seria desvantajoso para a

planta utilizar-se dessa associação em um solo rico em nitrogênio, e poderia ser vantajoso fazê-lo em solos com escassez de nitrogênio.

Considerando que plantas da família Fabaceae modulam a associação com bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rhizobium* através da reabsorção de nódulos (Larcher, 1986), nosso objetivo foi entender como a fertilidade no solo afeta a intensidade das associações mutualísticas entre *Dalbergia ecastophyllum* (Fabaceae) e *Rhizobium* sp. Nossa hipótese é que o aumento na quantidade de nitrogênio no solo diminui a associação de espécies de Fabaceae com as bactérias do gênero *Rhizobium*.

MATERIAL & MÉTODOS

Área de estudo

Realizamos nosso estudo em uma área de restinga localizada na Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Barra do Una, no litoral sul do estado de São Paulo. O solo da restinga, por ser arenoso e permeável, é muito pobre em nutrientes (Souza & Capellari Jr., 2004). No entanto, na restinga, há um gradiente vegetacional em que ocorre um aumento em diversidade e quantidade de plantas a partir da região de dunas em direção à floresta de encosta (Castanho, 2012). Conforme a biomassa de vegetação aumenta, a quantidade de serapilheira no solo também aumenta. Como a decomposição

de serapilheira disponibiliza nitrogênio em formas que podem ser prontamente utilizadas por vegetais (Larcher, 1986), há um aumento de fertilidade do solo em locais com mais vegetação.

Modelo de estudo

A espécie *D. ecastophyllum* é um arbusto comum nas restingas do Brasil onde geralmente ocorre em moitas (Souza & Capellari Jr., 2004). Essa planta é particularmente abundante no escrube e é uma das poucas espécies capaz de colonizar a região de dunas, onde podem-se encontrar indivíduos isolados das grandes moitas de *D. ecastophyllum* (Souza & Capellari Jr., 2004). Assim como outras espécies de Fabaceae, *D. ecastophyllum* apresenta uma associação mutualística com a bactéria *Rhizobium*, que resulta em nódulos em suas raízes. Essa associação facilita a sua colonização em locais com pouca quantidade de nitrogênio disponível (Souza & Capellari Jr., 2004), pois as bactérias fixam nitrogênio nos nódulos e o disponibilizam para a planta (Larcher, 1986).

Coleta de dados

Para a coleta de dados, determinamos três transectos de 60 m cada, posicionados perpendicularmente à linha do mar, separados por 50 m cada um. Nos transectos, a cada 10 m, selecionamos o indivíduo de *D. ecastophyllum* mais próximo com altura entre 15 e 30 cm e que estivesse isolado de moitas de *D. ecastophyllum*. Essa padronização evitou que as plantas amostradas estivessem recebendo nitrogênio de outras plantas às quais pudessem estar conectadas. A padronização da altura das plantas permitiu que amostrássemos raízes que estivessem aproximadamente na mesma fase de desenvolvimento e já tivessem raízes ramificadas. Ao todo, coletamos 13 indivíduos de *D. ecastophyllum*, três em um transecto e cinco em cada um dos outros dois transectos.

Para estimarmos a fertilidade do solo em relação ao nitrogênio disponível, utilizamos como variável operacional a massa da serapilheira por área. Esse procedimento é justificável porque a serapilheira decomposta retorna ao solo nitrogênio prontamente utilizável para as plantas (Larcher, 1986). Coletamos toda a serapilheira em dois quadrantes de 0,25 m² posicionados rentes ao caule da planta amostrada e alinhados com o transecto. Peneiramos a serapilheira para retirar a areia e depois, no laboratório, pesamos a serapilheira em uma balança digital com precisão de 0,01 g.

Análise dos dados

Podemos supor que o número de nódulos por

comprimento de raiz é um bom estimador da intensidade da interação entre *Rhizobium* e *D. ecastophyllum*. A planta pode apresentar alguns nódulos inativos, entretanto estes nódulos tendem a ser reabsorvidos pela planta (Larcher, 1986). Assim, supusemos que não deve haver variabilidade na proporção de nódulos ativos e inativos entre os indivíduos amostrados. Para selecionar as raízes, sorteamos três raízes secundárias inteiras por indivíduo e quantificamos o número de nódulos por comprimento total de cada raiz para obtermos a densidade linear de nódulos por raiz.

Sob a hipótese de que quanto maior a quantidade de serapilheira, menor a associação entre plantas e bactérias, nossa previsão foi que haveria uma relação negativa entre a massa de serapilheira coletada ao redor de um indivíduo e a densidade linear de nódulos em suas raízes. Nossa estatística de interesse foi a inclinação da reta de regressão entre a massa de serapilheira e a densidade linear de nódulos. O coeficiente angular da reta de regressão ajustada aos nossos dados foi comparado com os valores de coeficientes angulares em um cenário nulo gerado por 10.000 aleatorizações dos valores de densidade linear de nódulos pela massa de serapilheira.

RESULTADOS

A regressão da densidade linear de nódulos nas raízes de *D. ecastophyllum* com a massa de serapilheira teve inclinação negativa ($p = 0,048$), assim como esperado pela nossa hipótese. No entanto, após a supressão de um valor discrepante (amostra com maior valor de densidade de nódulos), a relação não foi significativa ($p = 0,25$; Figura 1).

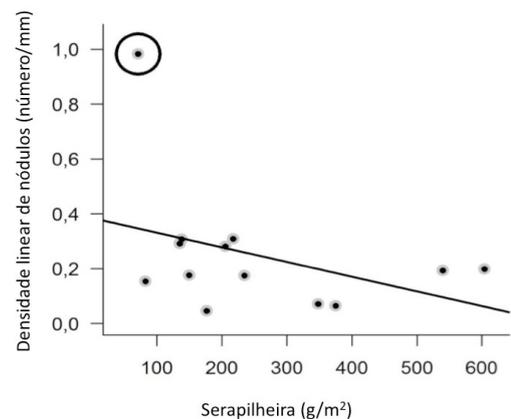


Figura 1. Relação entre a densidade linear de nódulos de *Rhizobium* nas raízes de *Dalbergia ecastophyllum* e a massa de serapilheira. A reta de regressão linear considera todas as amostras coletadas. Não há relação significativa se o valor extremo (ponto com círculo) é removido.

DISCUSSÃO

Conforme prevíamos, a densidade linear de nódulos em raízes de *D. ecastophyllum* apresentou uma relação negativa com a massa de serapilheira, o que é consistente com a hipótese de que a intensidade da interação entre a planta e as bactérias fixadoras de nitrogênio decresce com a fertilidade do solo. Propomos um modelo teórico que prevê um limiar de assimilação de nitrogênio para interpretar esse resultado (Figura 2). Nosso modelo parte da premissa que a eficiência de uso do nitrogênio pela planta é a taxa máxima de assimilação de carbono através de fotossíntese por átomo de nitrogênio.

Quando o conteúdo de nitrogênio de uma planta aumenta, a taxa de assimilação de carbono tende a estabilizar e a eficiência de uso de nitrogênio decresce (Lüttge, 1997). No entanto, o custo energético de assimilação por átomo de nitrogênio através dos nódulos de leguminosas infectadas por *Rhizobium* é constante (Larcher, 1996). Desse modo, deve haver um limiar de taxa de assimilação de nitrogênio tal que o nitrogênio advindo dos nódulos ainda se reverte em um benefício líquido em termos de fixação de carbono (Figura 2a). Se a soma total da taxa de assimilação de nitrogênio direto do solo pela associação com *Rhizobium* é menor que a taxa limiar, a maior assimilação de carbono ocorre em plantas com atividade total dos nódulos. Caso essa soma seja maior que a taxa limiar, a maior assimilação de carbono ocorre em plantas com atividade reduzida dos nódulos (Figura 2b). Assim, em plantas que maximizam a assimilação de carbono, é esperado que, em solos muito pobres em nitrogênio, a força de interação se mantenha à medida que aumenta a disponibilidade de nitrogênio assimilável até chegar na taxa limiar. Por outro lado, em solos mais ricos, a força de interação deve decrescer com maior disponibilidade de nitrogênio assimilável (Figuras 2c,b).

A redução da força de interação de *D. ecastophyllum* com *Rhizobium* em resposta a um aumento de fertilidade pode significar que, mesmo nos níveis de nitrogênio de solo mais baixos amostrados, a interação com *Rhizobium* é suficiente para fornecer nitrogênio para a *D. ecastophyllum* acima da taxa limiar (Figura 2b). Entretanto, uma análise de sensibilidade revelou que a relação encontrada depende de um único valor extremo na amostra e, neste caso, é importante considerar as implicações da ausência de relação quando este ponto é excluído. Nesse caso, é possível que a ausência de relação entre densidade de serapilheira e densidade nodular nas raízes das plantas ocorra porque todos os locais amostrados tinham fertilidade muito baixa. A faixa de restinga na qual trabalhamos deve ter baixa densidade de serapilheira se comparada com florestas de restinga, de modo que provavelmente é uma região de baixa fertilidade. Além disso, a padronização do tamanho e isolamento das plantas que amostramos nos restringiu a locais com pouca massa de serapilheira. Assim, as plantas analisadas neste trabalho estariam todas em uma situação análoga ao platô inicial (Figura 2c), em que aumentos de fertilidade não reduzem a associação entre a planta e as bactérias.

Para testar a hipótese que desenvolvemos a partir de nossos resultados (Figura 2c), propomos a realização de experimentos em que indivíduos de *D. ecastophyllum* sejam expostos a dosagens controladas de nitrogênio no solo. Esperamos encontrar associação de intensidade constante entre *D. ecastophyllum* e *Rhizobium* em dosagens baixas de nitrogênio e uma associação decrescente em dosagens mais altas (Figura 2c). A dosagem de nitrogênio na qual se iniciar o decréscimo da força de interação entre *D. ecastophyllum* e *Rhizobium* poderá ser comparada às estimativas de nitrogênio disponível no solo da restinga e, assim, ajudar a esclarecer a natureza da relação que encontramos neste estudo.

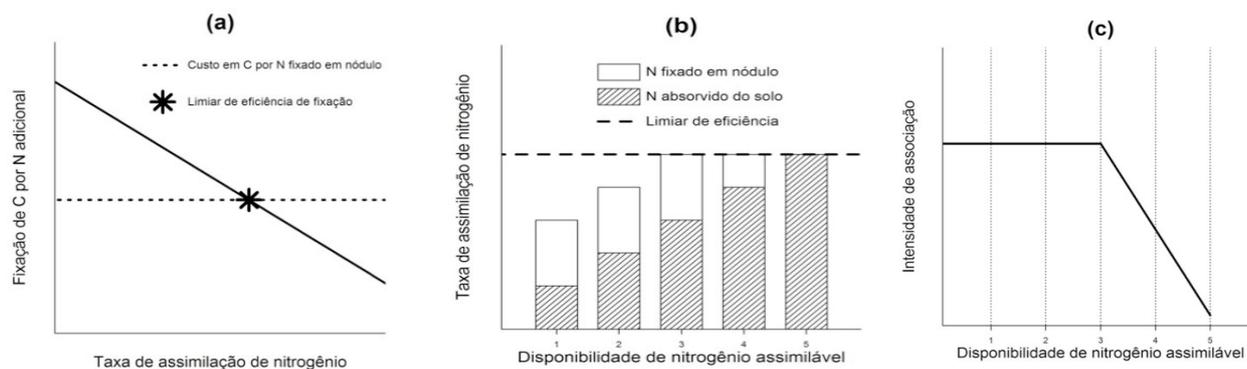


Figura 2. Modelo teórico para a relação mutualística em diferentes condições de nitrogênio no solo em uma planta com nódulos fixadores de nitrogênio. (a) Relação de fixação de carbono por nitrogênio adicional pela taxa de assimilação de nitrogênio. A linha sólida representa a eficiência de uso de nitrogênio (fixação de carbono por massa de nitrogênio) em função da taxa de assimilação de nitrogênio. A linha pontilhada representa o custo energético (em carbono) de fixação de nitrogênio. O ponto onde as linhas se encontram marca a taxa de assimilação de nitrogênio na qual o custo energético de fixar mais um átomo de nitrogênio equivale ao benefício energético que ele deve trazer. (b) Assimilação ótima de nitrogênio. As barras hachuradas representam a taxa de nitrogênio assimilado do solo e as barras vazias, a taxa de nitrogênio fixado pelos nódulos. A linha pontilhada representa a taxa de assimilação de nitrogênio a partir da qual fixar nitrogênio em nódulos gera mais custos energéticos que benefícios. (c) Intensidade de associação de uma planta com bactérias fixadoras de nitrogênio por disponibilidade de nitrogênio assimilado no solo. A linha contínua representa a intensidade de associação ocorrendo de forma ótima. O decréscimo ocorre a partir do momento em que a taxa de nitrogênio absorvido do solo e fixado em nódulo alcançam o limiar em (b).

REFERÊNCIAS

- Begon, M.; C.R. Townsend, & J.L. Harper, 2006. *Ecology from individuals to ecosystems*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Castanho, C.T. 2012. Facilitação entre plantas e suas implicações para a dinâmica e restauração de restingas. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants. *Oecologia*, 78:9-19.
- Larcher, W. 1986. *Ecofisiologia vegetal*. Editora Pedagógica e Universitária Ltda, São Paulo.
- Lüttge, U. 1997. *Physiological ecology of tropical plants*. Springer, Berlin.
- Souza, V.C. & L. Capellari Jr. 2004. A vegetação das dunas e restingas da estação ecológica Juréia-Itatins, pp. 103-114. Em: *Estação Ecológica Juréia-Itatins: ambiente físico, flora e fauna* (O.A.V. Marques & W. Duleba, eds.). Holos, Ribeirão Preto.

Orientadora: Camila Castanho