



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLO CONTAMINADO COM *Ralstonia solanaceae* E TRATADA COM AGENTES BIOLÓGICOS DE CONTROLE

Lucas das Silva Souza¹, Ana Carolina Firmino¹, Gabriel Leonardi Antonio¹, Paulo Renato de Matos Lopes¹, João Vitor França Pirola¹, Miriam Alves de Faria¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Campus de Dracena, lucas.souza011996@gmail.com

RESUMO – Foi avaliada a emissão de CO₂ da atividade microbionada em solos contendo *Ralstonia solanaceae*, *Trichoderma harzianum* e *Paecilomyces lilacinus*, em dois momentos, após 72 horas e 144 horas, o nível de CO₂ foi avaliado seguindo metodologia de Bartha e Pramer (1965) e Faria et. al. (2013). Os dados adquiridos foram submetidos ao teste estatístico Tukey a 5% de nível de significância. Os resultados mostraram um aumento da emissão de CO₂ na primeira avaliação com o acréscimo de agentes biológicos, mas na segunda avaliação essa emissão diminuiu.

INTRODUÇÃO

A nível mundial, o Brasil possui a segunda maior área de plantio de *Eucalyptus*, com aproximadamente 4,2 milhões de hectares. Onde os principais estados produtores são Minas Gerais, Bahia, São Paulo, Rio Grande do Sul e Espírito Santo (ABRAF, 2013).

Nos últimos anos, o crescente aumento nas áreas de plantios de eucalipto supre a também crescente demanda por matéria-prima para produção de carvão vegetal, celulose, óleos vegetais, madeira para serraria, dentre outros (ALFENAS *et al.*, 2004).

Após sua introdução no estado de São Paulo para fins comerciais, o eucalipto se manteve livre de doenças até o início de 1970 (ALFENAS & MAFIA, 2006). Mas devido a crescente na expansão de áreas produzidas algumas doenças que não eram consideradas problemas para a cultura se tornaram relevantes. Dentre essas doenças podemos citar a murcha-de-ralstonia causada por *Ralstonia solanaceae*.

Foi relatado por Sudo et al. (1983) que a primeira ocorrência de murcha bacteriana causada por *Ralstonia* no eucalipto foi no município de Prata, Minas Gerais. Em cerca de 20 anos ela estava disseminada por todo o território brasileiro onde se plantava eucalipto (AUER et al., 2008). Esta bactéria infecta as plantas de maneira



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia 20 a 22 de fevereiro de 2018 Marília - SP

vascular, causando sintomas de escurecidos dos vasos e as hastes e ramos apresentam estrias marrons a marrom escuras, podendo resultar em murcha e morte da planta (MAFIA, 2006).

O patógeno pode ser disseminado por tratos culturais, irrigação ou águas de chuvas, além de ser capaz de sobreviver no solo. A bactéria também pode sobreviver em restos da cultura do eucalipto, como cascas, tocos, serragem, raízes ou ramos. Sendo a movimentação desse material no momento do preparo do solo um fator que pode facilitar sua disseminação no campo de produção (MAFIA, 2006).

Com relação ao controle dessa doença, não há materiais resistentes, portanto, o manejo correto da área é de grande importância para o controle dela.

A murcha bacteriana pode reduzir o percentual de sobrevivência das plantas infectadas, além de causar redução acentuada de seu desenvolvimento e alterações na qualidade da madeira (MAFIA, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de fitopatologia da FCAT – Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, UNESP – Dracena. O trabalho constou com fatorial simples, sendo quatro tratamentos com três repetições cada, totalizando 12 amostras. Os tratamentos foram: tratamento controle, sendo somente o solo, tratamento R+S, onde foi feita a adição do patógeno (*Ralstonia solanaceae*) no solo, tratamento T+R+S, sendo a adição do patógeno, do fungo de controle biológico *Trichoderma harzianum*. no solo, tratamento P+R+S, que foi a adição do patógeno e *Paecilomyces lilacinus* no solo.

As amostras constaram de 50 gramas de solo esterilizadas. O processo de esterilização foi o de autoclavagem a 121°C por 30 minutos. Para obtenção da suspensão bacteriana do patógeno, as colônias foram diluídas em água esterilizada e sua concentração foi ajustada a uma DO de 0,1 em espectrofotômetro. Após esse processo as amostras foram levadas ao respirômetro para monitoramento e nele foi acrescido 500µL da suspensão bacteriana e 0,05g de agente de controle biológico. A concentração de *T. harzianum* e *P. lilacinus* usadas no trabalho foi de 10^{10} UFC/g e $7,5 \times 10^9$ UFC/g do produto comercial, respectivamente.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia 20 a 22 de fevereiro de 2018 Marília - SP

O monitoramento da emissão de CO₂ de cada tratamento foi realizado pelo método de Bartha, sendo que as leituras foram realizadas após 72 e 144 horas da montagem do teste (Bartha e Pramer, 1965).

A metodologia do respirômetro de Bartha e Pramer (1965) é realizada utilizando-se um sistema fechado que possui duas câmaras conectadas, sendo que num frasco de Enlermeyer que representa uma das câmaras ocorre a liberação de CO₂ produzido pela respiração microbiana. Esse CO₂ liberado é capturado por uma solução com 10 mL de hidróxido de potássio (KOH) que está contida na outra câmara.

Na realização da leitura o KOH contido na câmara é retirado e colocado em um Becker, onde é adicionado 1 mL de cloreto de bário (BaCl₂), após a adição do cloreto de bário o conteúdo contido no Becker é submetido a uma leitura de condutividade elétrica em um sensor de condutividade previamente calibrado e seco. Após a obtenção do valor da condutividade elétrica em mS, é utilizada a seguinte equação para transformar esse valor par mg de CO₂:

$$GCO_2 = 3258,0354 - (172,4056) * C \quad (1) \quad R^2 = 0,9997$$

Em que, GCO₂ = geração de gás carbônico em mg; C = condutividade em mS.

A metodologia de leitura foi baseada em uma técnica desenvolvida por Faria et. al. (2013). Os valores obtidos de CO₂ foram submetidos ao teste de análise Tukey a 5% de significância pelo programa SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 a seguir apresenta os resultados das duas avaliações de emissão de CO₂ dos tratamentos analisados.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

Tabela 1. Emissão de CO₂ (mg) dos tratamentos

Tratamento	Avaliação 1	Avaliação 2
Controle	1178.88 C	1190.03 A
T+R+S	1561.12 AB	1446.28A
P+R+S	1663.11 A	1449.71 A
R+S	1257.74 BC	1382 A
Média	1415.21	1367
CV (%)	5.92	9.47
DMS	341,19	526,70

Letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente segundo o teste Tukey a 5% de significância.

O tratamento controle, que continha somente solo, foi o que obteve menores valores de CO₂, provavelmente devido a menor quantidade de microrganismos ativos no solo. Verificou-se que houve influência do acréscimo dos agentes biológicos de controle no solo sobre a emissão de CO₂. Segundo Gama-Rodrigues (1999), a emissão de CO₂ no solo é reflexo da respiração microbiana, o que reflete a atividade tanto aeróbia quanto anaeróbios no solo. Vários fatores são atuantes nessa respiração microbiana como, por exemplo, a presença de substâncias inibidoras de crescimento microbiano, a composição química do substrato e fatores nutricionais do solo (MERCANTE et al., 2008).

Sabe-se que tanto o *Trichoderma* quanto a *Paecilomyces*, apresenta versatilidade de ação, podendo degradar paredes celulares de outros microrganismos por meio da produção de enzimas ou produzir substâncias micotóxicas, (BENÍTEZ et al., 2004; MARCO et al., 2004; GRAVEL et al., 2007; PARVEEN, EHTESHAMUL-HAQUE, GHAFAR, 1998), o que pode explicar a menor respiração dos tratamentos que envolviam estes fungos na segunda avaliação. Porém, ainda vale ressaltar que esta queda respiração também pode estar relacionada com a estabilização da população de microrganismos no solo.

CONCLUSÕES

Na primeira avaliação houve um aumento da atividade microbiana no solo com ao acréscimo dos agentes biológicos de controle. Porém, na segunda avaliação, foi verificada uma diminuição desta atividade.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C., MAFIA, R.G., SARTÓRIO, R.C., BINOTI, D.H.B., SILVA, R.R., LAU, D. & VANETTI, C.A. *Ralstonia solanacearum* Em Viveiros Clonais de Eucalipto no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*. 2006 (no prelo).

ALFENAS, A.C., ZAUZA, E.A, V., MAFIA, R.G. & ASSIS, T.F. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa, MG. Imprensa Universitária. 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS.

(ABRAF) Anuário estatístico da associação brasileira dos produtores de florestas plantadas 2013. Disponível em: <http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/handle/123456789/3910>. Acesso em: 24 nov. 2017

AUER, C. G.; SANTOS, A. F.; RODRIGUES NETO, J. Ocorrência de murcha bacteriana em plantios de *Eucalyptus grandis* no Estado de Santa Catarina. *Tropical Plant Pathology*, v. 33 (Supl.), p. 370, 2008.

BARTHA, R.; PRAMER, D. Features of a flask and method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in soil. *Soil Science*. v.100, n.1, p.68-70, 1965.

BENITEZ, T.; RINCÓN A.M.; LIMÓN M.C.; CODÓN A.C., Biocontrol mechanisms of *Thichoderma stains*, *International microbiology*, Madrid, v.7, p. 249-260, 2004.

FARIA, A. U.; MARIN-MORALES, E.; ANGELIS, D. F. Manual de protocolos de laboratório. Rio Claro: Departamento de Bioquímica e Microbiologia - UNESP - IB, 2013.

GAMA-RODRIGUES, E. F.; BARROS, N. F.; GAMARODRIGUES, A. C.; SANTOS, G. A. S. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 29, n. 3, p. 893-901, 2005.

MAFIA, R. G. Sintomatologia, etiologia e controle da Murcha Bacteriana do eucalipto. 2006.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

96p. 2006. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Fitopatologia)– Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia 20 a 22 de fevereiro de 2018 Marília - SP

MARCO, S.D.; OSTI, F.; CESARI, A. Experiments on the control of esca by *Trichoderma*. *Phytopathology Mediterranean*, Bolonha, v. 43, p.108-115, 2004.

MERCANTE, F. M.; SILVA, R. F.; FRANCELINO, C. S. F.; CAVALHEIRO, J. C. T.; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 34, n. 4, p. 479-485, 2008.

SUDO, S., OLIVEIRA, G.H.N. & PEREIRA, A.C. Eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e bracatinga (*Mimosa scabrella* Penth), novos hospedeiros de *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. *Fitopatologia Brasileira* 8:631. 1983. (Resumo)

PARVEEN, S., EHTESHAMUL-HAQUE, S. e GHAFFAR, A. “Efficacy of *Pseudomonas aureginosa* and *Paecilomyces lilacinus* in the control of Root Rot- Root knot disease complex of some vegetables, *Nematologia Mediterrânea*, v.26. p. 209-212, 1998.