



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

## ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLO CONTAMINADO COM *Ceratocystis fimbriata* E TRATADO COM AGENTES BIOLÓGICOS DE CONTROLE

Gabriel Leonardi Antonio<sup>1\*</sup>, Ana Carolina Firmino<sup>1</sup>, Lucas das Silva Souza<sup>1</sup>, Paulo Renato de Matos Lopes<sup>1</sup>, João Vitor França Pirola<sup>1</sup>, Miriam Alves de Faria<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, FCAT, UNESP- Dracena-SP. [gabriel-leonardi@bol.com.br](mailto:gabriel-leonardi@bol.com.br) \* Bolsista PIBIC

**RESUMO** - Foi avaliada a emissão de CO<sub>2</sub>, em sistemas de interação entre o patógeno *Ceratocystis fimbriata* e os agentes de controle biológico *Trichoderma harzianum* (T) e *Paicelomyces lilacinus* (P) em solo (S). As avaliações da emissão de CO<sub>2</sub> foram realizadas pela metodologia do respirômetro de Bartha sendo que foram realizados 4 tratamentos (Controle, C+S, T+C+S e P+C+S) com 3 repetições cada, sendo que todos foram mantidos em BOD sob temperatura de 28°C e as avaliações foram realizadas após 72 e 144 horas da montagem do experimento. Foi observado que a emissão de CO<sub>2</sub> se estabilizou no intervalo da primeira para a segunda leitura e que o tratamento T+C+S diferiu significativamente em relação ao controle na primeira leitura, além disso os maiores valores numéricos em ambas as leituras foram os dos tratamentos T+C+S e P+C+S. As prováveis causas para a maior emissão de CO<sub>2</sub> nesses tratamentos foi a presença dos agentes de controle que por meio de sua respiração aumentaram a emissão de CO<sub>2</sub>, o sistema somente com o patógeno provavelmente teve uma emissão menor devido a ausência de um hospedeiro, o que acaba reduzindo sua atividade.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Ceratocystis*, engloba um grupo de fungos pertencentes a ordem Ascomycota, sendo seu crescimento em meio BDA (batata, dextrose, ágar) em placas de petri inicia-se com um micélio esbranquiçado que com o passar do tempo se torna cinza e finalmente negro, sendo possível observar nas próprias placas as estruturas reprodutivas do fungo, denominadas peritécios.

As doenças causadas por fungos deste gênero provocam do xilema da planta, sendo que com o progresso da doença ocorrem murchamento e seca da planta, já que fica impossibilitada a translocação de água pelos vasos e conseqüentemente por toda a planta, sendo que a presença de estrias radiais escurecidas caracterizam as plantas atacadas. (BAKER; HARRINGTON, 2004).

A presença do fungo no solo está relacionada a presença de clamidósporos, esporos de resistência do patógeno que são formados em condições ambientais que favoreçam o desenvolvimento da doença. Isso ocorre após a morte das plantas e com o início do desenvolvimento do patógeno em tecido morto, condição onde o mesmo realiza reprodução sexuada e conseqüentemente formam os esporos (LAIA et al., 2000; T.C HARRINGTON citado por CABI, 2005).

A interação de *Ceratocystis fimbriata* com agentes de controle foi verificada por Antonio (2017). Neste trabalho verificou-se o efeito dos agentes de controle *Thichoderma herzanium* e *Paicelomyces lilacinus* em vasos cultivados com eucalipto e infestados com *Ceratocystis fimbriata*



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

## 20 a 22 de fevereiro de 2018

### Marília - SP

e constatou-se efeitos positivos dos agentes sobre as plantas e negativos sobre o patógeno.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado entre os dias 17/11/2017 e 23/11/2017 no laboratório 5 da FCAT- Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas no município de Dracena-SP, e foram utilizados 4 tratamentos com 3 repetições cada que foram denominados da seguinte maneira:

- Controle – 50 g de solo autoclavado
- C+S – 50 g de solo autoclavado e 500 µL de uma solução de  $10^8$  de *Ceratocystis fimbriata*
- T+C+S – 50g de solo autoclavado, 500 µL de uma solução de  $10^8$  de *Ceratocystis fimbriata* e 0,05 g de *Trichoderma harzianum*
- P+C+S – 50 g de solo autoclavado, 500 µL de uma solução de  $10^8$  de *Ceratocystis fimbriata* e 0,05 g de *Paicelomyces lilacinus*

O monitoramento da emissão de CO<sub>2</sub> de cada tratamento foi realizado pelo método de Bartha, sendo que as leituras foram realizadas após 72 e 144 horas da montagem do teste, sendo que os sistemas foram mantidos numa BOD submetida a temperatura de 28 °C.

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 CO<sub>2</sub> produzido pela respiração microbiana de cada um dos tratamentos. Esse CO<sub>2</sub> 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 (BaCl<sub>2</sub>), após a dição 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 CO<sub>2</sub>:

$$GCO_2 = 3258,0354 - (172,4056) * C \quad (1)$$

$$R^2 = 0,9997$$

em que, GCO<sub>2</sub> = 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).

Por fim os dados foram submetidos ao Teste Tukey a 5% de significância pelo programa



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Tabela 1:** Emissão de CO<sub>2</sub> de cada tratamento após decorridas 72 e 144 horas da montagem do teste do respirômetro

Tratamentos	Primeira leitura (72 horas) (mg de CO <sub>2</sub> )	Segunda leitura (144 horas) (mg de CO <sub>2</sub> )
Controle	1178,89 b	1190,03 a
T+C+S	1586,83 a	1504,56 a
P+C+S	1439,43 ab	1415,43 a
C+S	1264,59 ab	1267,16 a
Média	1367,43	1344,29
CV (%)	6,17	11,90
DMS	343,22	651,15

Os resultados demonstram que o controle apresentou menor taxa de respiração em relação aos outros tratamentos, diferindo estatisticamente do tratamento T+C+S na primeira leitura, tratamento esse que apresentou os maiores valores de respiração nas duas leituras. O fato da diferença estatística ter sido observada apenas na primeira leitura pode estar ligado a maior produção de CO<sub>2</sub> nos primeiros dias de ensaios dessa natureza, como também foi observado por Neves (2017), onde após o quarto dia do ensaio houve uma estabilização na emissão de CO<sub>2</sub>.

Com relação a diferença estatística apresentada no tratamento onde se utilizou *Trichoderma harzianum*, é possível que a respiração desse microorganismo tenha aumentado a taxa de CO<sub>2</sub> no sistema e conseqüentemente propiciado um maior valor na leitura. No caso da utilização de *Paicelomyces lilacinus*, apesar de não ser observada diferença estatística em relação ao tratamento onde utilizou-se apenas o patógeno, o valor da respiração apresentou-se superior nas duas leituras, o que pode também estar relacionado a respiração desse organismo.

Quando se utilizou apenas o patógeno foram observados valores numéricos inferiores em relação a utilização de patógeno e agente de controle, o que pode estar ligado a menor atividade do mesmo na ausência de um hospedeiro.

A maior quantidade de microorganismos presentes em solo aumentando a taxa de respiração já foi observada por Alves et. al (2011), onde foi observado que sistemas de manejo que favoreciam a presença da microbiota do solo aumentaram a taxa de respiração do solo.

## CONCLUSÃO



# XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018  
Marília - SP

A presença dos agentes de controle biológico no sistema provocou um aumento da emissão de CO<sub>2</sub> indicando uma maior taxa de respiração nesses sistemas.

## REFERÊNCIAS

ALVES, T.S; **Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos.** Acta Scientiarum. Agronomy, v. 33, n. 2, p. 341-347, Maringá, 2011.

ANTONIO, G.L; **Potencial Antogônico de *Trichoderma harzianum* e *Paicelomyces lilacinus* sobre *Ceratocystis fimbriata* em solo cultivado com eucalipto.** Jul, 2017. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Dracena, 2017.

BAKER, C. J.; HARRINGTON, T. C. **Ceratocystis fimbriata.** In: \_\_\_\_\_. Crop Protection Compendium. Kew, Surrey: CABI Publishing, 14 p., 2004.

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.

CAB International, **Ceratocystis fimbriata (texto original de T.C. Harrington).** In: Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK, 2005.

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

LAIA M.L, ALFENAS A.C, HARRINGTON T.C. **Isolation, detection in soil, and inoculation of *Ceratocystis fimbriata*, causal agent of wilting, die-back and canker in *Eucalyptus*.** Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.25, p.384, 2000.

NEVES, A.B.R; **Influência de vinhaça e tebutiurum na microbiota e ecotoxicidade de solo cultivado com cana-de-açúcar em sistema de produção orgânico.** Jul, 2017. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Dracena, 2017.