

EFEITO DO BIOPIROL® NO CRESCIMENTO DE *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*

Leidiane PORTUGAL¹; Roseli dos R. GOULART²; Eunice M. BAQUIÃO³; Kamila C. de C. ASSIS⁴

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes concentrações do BiopiroI® no crescimento de dois isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*. Foi instalado um experimento com cada isolado, 157 e 53, em delineamento em blocos casualizados (DBC), com seis tratamentos, cinco repetições, totalizando 30 unidades experimentais. Para tal, o BiopiroI® foi adicionado ao meio de cultura Kado 523 nas concentrações, 0, 200, 400, 600 e 800 µL de produto por 100 mL de meio de cultura. Como testemunha positiva foi utilizado o produto Kasumin®, na concentração de 300 µL 100mL⁻¹ de meio de cultura. O meio foi vertido em placa de Petri e a bactéria inoculada sobre o meio solidificado. Após incubação das placas em BOD por 48h avaliou-se o número de unidades formadoras de colônia (UFC). O BiopiroI® reduziu o crescimento dos dois isolados *in vitro* com o aumento da sua concentração. Nas concentrações de 600 e 800 µL 100 mL⁻¹, o BiopiroI® inibiu completamente o crescimento de ambos os isolados, similarmente ao tratamento Kasumin®. Conclui-se que o BiopiroI® é eficiente no controle de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro* a partir da concentração de 600 µL 100 mL⁻¹.

Palavras-chave: Bacteriose; Cafeeiro; Extrato Pirolenhoso; Queima Do Carvão.

1. INTRODUÇÃO

A mancha aureolada, causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (AMARAL et al., 1956), causa prejuízos significativos na cultura do cafeeiro. O manejo da doença por meio de fitossanitários é fundamentado principalmente na utilização do antibiótico Casugamicina e sais de cobre, em dosagens recomendadas pelos fabricantes, devendo ser realizado preferencialmente de forma antecipada à epidemia da doença, principalmente em áreas com histórico de mancha aureolada, recém instaladas ou reformadas por podas, e cafezais sujeitos a frequente ação do vento (RODRIGUES et al., 2013).

O emprego de produtos alternativos aparece como uma opção ao uso dos bactericidas e fungicidas sintéticos, em termos de eficiência e controle (BONALDO et al., 2004).

O extrato pirolenhoso é recomendado como fertilizante orgânico em diversas culturas pelo seu efeito nutricional, no entanto, tem efeito sobre algumas doenças de plantas (ALVES, 2006). O efeito do extrato pirolenhoso sobre os organismos vivos depende de sua concentração (SAIGUSA, 2002). Esse material é obtido por meio da condensação da fumaça liberada no processo de carbonização da madeira para produção de carvão (SILVEIRA, 2010).

¹Mestranda, Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP – Botucatu. E-mail: leidiane.portugal@hotmail.com

²Orientadora, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: roseli.goulart@muz.ifsuldeminas.edu.br

³Graduanda, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: eunicebachianr@gmail.com

⁴Graduanda, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: kamilac.cassis@hotmail.com

Apesar dos efeitos preconizados para o extrato pirolenhoso, existe escassez de informações científicas que possam dar suporte à utilização deste produto e à compreensão dos mecanismos pelos quais funciona, especialmente no que se refere ao controle de bacterioses. Assim, objetivou-se avaliar diferentes concentrações do Biopirol[®] no crescimento de dois isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas- Campus Muzambinho, MG.

Foram utilizados nos experimentos, dois isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, 53 e 157, fornecidos pelo Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Lavras, obtidos a partir de plantas de cafeeiro infectadas a campo, proveniente de diferentes lavouras.

O experimento com cada isolado foi instalado em delineamento em blocos casualizados (DBC), com seis tratamentos, cinco repetições, totalizando 30 unidades experimentais.

O preparo do inóculo nos dois experimentos foram feitos da mesma forma, onde a bactéria foi cultivada em meio Kado 523 (KADO, C.I. & HESKETT, M.G, 1970) e incubadas em BOD a 28 ± 2°C, com fotoperíodo de 12 h de luz, por 48 h. Após esta etapa, as colônias foram suspendidas em solução salina (0,85%), e posteriormente a suspensão foi calibrada em espectrofotômetro (600nm), para a concentração de 1,1x10⁸ UFC mL⁻¹.

Para a instalação do experimento, o Biopirol[®] foi adicionado e homogeneizado ao meio de cultura Kado 523, nas seguintes concentrações, 0, 200, 400, 600 e 800 µL de produto por 100 mL de meio de cultura, correspondendo a 0, 200, 400, 600, 800 mL do produto/100 L de água. Como testemunha positiva foi utilizado o produto Kasumin[®], na dose comercial do produto, 300 mL 100L⁻¹, correspondendo a 300 µL por 100 mL de meio de cultura. O meio foi vertido em placas de petri, após sua solidificação foi adicionado 100 µL da suspensão de inóculo, distribuído sobre a placa com o auxílio da alça de Drigalski. As placas contendo os tratamentos foram incubadas em BOD como descrito anteriormente. Ao término do período de incubação foi realizada a quantificação do número de colônias bacterianas desenvolvidas em cada placa, representado pela variável UFC. Os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de variância, através do programa SISVAR[®] (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ambos os isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* apresentaram redução significativa

no número de UFC com o aumento da concentração de Biopiról® (Tabela 1), evidenciando o efeito bactericida do produto (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações de Biopiról® e do antibiótico Kasumin® no crescimento de dois isolados de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro* (Muzambinho, 2017).

Tratamentos ($\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$)	Isolado 53 (UFC placa ⁻¹)	Isolado 157 (UFC placa ⁻¹)
0	160,0 d*	105,0 d
200	65,0 b	82,5 b
400	25,0 c	46,5 c
600	0,0 a	0,0 a
800	0,0 a	0,0 a
Kasumin®	0,0 a	0,0 a
CV(%)	28,93	15,56

*Na coluna, as médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 0,05 de significância. Dados transformados para $y = \sqrt{x+0,5}$.

Embora o comportamento dos dois isolados, 157 e 53, tenham sido semelhantes, observa-se que o isolado 157 apresentou menor sensibilidade ao Biopiról® nas concentrações menores do produto. Pois na concentração de 200 $\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$ a redução em UFC foi de 11,9%, ao passo que para o isolado 53 a redução foi de 37,73% nesta mesma concentração, e para a concentração de 400 $\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$ de Biopiról® a redução foi de 33,65% para o isolado 157 e 60,58% para o isolado 53. Porém, a partir da concentração de 600 $\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$, houve inibição completa do crescimento bacteriano para ambos os isolados.

Os resultados do presente trabalho diferem do encontrado por GOULART et al. (2017), em que avaliando o efeito de diferentes concentrações de Biopiról® no crescimento de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*, verificaram que a partir da dose de 200 $\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$ houve inibição completa do crescimento bacteriano. No entanto, deve-se considerar que os autores trabalharam com outro isolado.

Comparando-se o número de UFC obtido nos tratamentos que receberam Biopiról®, com o tratamento que recebeu o antibiótico comercial Kasumin® e com a testemunha sem tratamento, observou-se que todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha (Tabela 1). As concentrações de Biopiról® de 600 e 800 $\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$ tiveram eficiência semelhante ao tratamento químico Kasumin® na redução do crescimento microbiano.

Considerando que Biopiról® a partir da concentração de 600 $\mu\text{L } 100 \text{ mL}^{-1}$ foi tão eficiente quanto o antibiótico sintético Kasumin®, pode-se inferir que tal resultado é vantajoso, pois como

composto natural não tóxico ao aplicador o extrato pirolenhoso pode ser utilizado em cultivos orgânicos, além desta alternativa baratear custos na lavoura convencional, já que possui também propriedades nutricionais (TSUZUKI et al., 2000).

4. CONCLUSÕES

O Biopiro[®] a partir da concentração de 600 µL 100 mL⁻¹ é tão eficiente quanto o Kasumin[®] no controle dos isolados 157 e 53 de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, M. **Impactos da Utilização de Fino de Carvão e Extrato Pirolenhoso na Agricultura**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2006. 52p.

AMARAL, J.F.; TEIXEIRA, C.G.; PINHEIRO, E.D. A bactéria causadora da mancha aureolada do cafeeiro. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.23, p.151-155, 1956.

BONALDO, S. M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**. v.29, p.128-134, 2004.

FERREIRA, D.F. Sisvar: Um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. V.35, n.6. Lavras. Nov./Dec.2011.

GOULART, R.R.; FIGUEIREDO, R.F.; TEIXEIRA, D.S.; HONÓRIO, A.P. Efeito do extrato pirolenhoso no crescimento de *Pseudomonas syringae* pv. *garcea* *in vitro*. **50º Congresso brasileiro de Fitopatologia**. Uberlândia, 2017.

KADO, C.I; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology** 60:969-979. 1970.

RODRIGUES, L. M. R. et al. Mancha aureolada do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. **Boletim Técnico IAC**,212, Campinas, 2013.

SILVEIRA, C. M. **Influência do extrato pirolenhoso no desenvolvimento e crescimento de plantas de milho**. 2010. 75p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SAIGUSA, T. Aplicação de extrato pirolenhoso na agricultura (APAN – Associação dos produtores de Agricultura natural). Apostila, p.24-32, 2002.

TSUZUKI, E.; WAKIYAMA, Y.; ETO, H.; HARADA, H. Effect of chemical compounds in pyrolyneous acido on root growth in rice plants. **Japan Journal of Crop Science**, Bankyo-ku, Tokyo, v. 66, n. 4, p. 15-16, 2000.