

## EFEITO DO EXTRATO PIROLENHOSO (BIOPIROL®) NO CONTROLE DE *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*

Eunice Maria BAQUIÃO<sup>1</sup>; Roseli dos Reis GOULART<sup>2</sup>; Luis Rodolfo Souza Paulino da COSTA<sup>3</sup>; Kamila Cristina Credo ASSIS<sup>4</sup>

### RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes doses do Biopiról® no crescimento de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*. O experimento foi montado em DBC, com sete tratamentos, cinco repetições e 35 unidades experimentais. Para tal, o Biopiról® foi adicionado ao meio de cultura Kado 523, nas doses, 0, 180, 360, 540, 720 e 900 µL de produto por 120 mL de meio de cultura, como testemunha positiva utilizou-se o Kasumin®, na concentração de 360 µL por 120 mL de meio de cultura. O meio foi vertido em placa de Petri e a bactéria (isolado 57) inoculada sobre o meio solidificado. Após incubação das placas em BOD por 48h, as bactérias foram suspendidas em solução salina, na qual mediu-se a absorbância em espectrofotômetro a 600 nm. O Biopiról® na dose de 180 µL por 120 mL não foi eficiente na inibição do crescimento da bactéria, na dose de 360 µL por 120 mL teve eficiência intermediária, com redução de 84,4% na absorbância comparado a testemunha. A partir da dose 540 µL por 120 mL, a redução foi superior a 99,0%, sendo semelhante ao tratamento químico Kasumin®. Conclui-se que o Biopiról® é eficiente no controle do crescimento do isolado 57 de *P. syringae* pv. *garcae* *in vitro* a partir da concentração de 540 µL por 120 mL.

**Palavras-chave:** Bacteriose; Cafeeiro; Subproduto da queima do carvão.

### 1. INTRODUÇÃO

A mancha aureolada do cafeeiro é causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (AMARAL et al., 1956). E causa prejuízos significativos na cultura do cafeeiro, principalmente em mudas e plantas novas ou podadas (RODRIGUES et al., 2013).

O manejo da doença tem sido feito principalmente pelo uso do antibiótico Casugamicina e produtos cúpricos (RODRIGUES et al., 2013). No entanto, a carência de produtos registrados e o desenvolvimento de resistência do patógeno a antibióticos têm dificultado o controle da doença (JESUS JUNIOR et al., 2002).

O uso de produtos naturais tem sido utilizado como alternativa ao uso dos bactericidas e fungicidas sintéticos. Um desses produtos é o extrato pirolenhoso, obtido por meio da condensação da fumaça liberada no processo de carbonização da madeira para produção de carvão (PORTO et al. 2007). O qual é composto de ácido pirolenhoso e ácidos acético e fórmico, metanol e alcatrão solúvel, além de outros constituintes menores como, compostos fenólicos, ácidos, componentes neutros, álcoois e micronutrientes, sendo que a maior parte é constituída por água (85%) (YOTZCHETZ JÚNIOR, 2009).

<sup>1</sup>Aluna, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: eunicebachiaonr@gmail.com

<sup>2</sup>Orientador, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: roseli.goulart@muz.ifsuldeminas.edu.br

<sup>3,4</sup>Alunos, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: luisrodolfo88@yahoo.com.br

O efeito fungicida do extrato pirolenhoso já foi comprovado para diversos fungos (PIETA et al. 2017; FURTADO et al. 2002) e para algumas bactérias (JOJIMA et al. 2014)

Apesar destes resultados, existe escassez de informações científicas que mostrem a eficiência do extrato pirolenhoso sobre bactérias fitopatogênicas. Neste contexto o presente trabalho objetivou avaliar diferentes doses do Biopirol<sup>®</sup> no crescimento de um isolado de *P. 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.

O experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados, com sete tratamentos, cinco repetições, totalizando 35 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri.

Foi utilizado o isolado 57 de *P. syringae* pv. *garcae* fornecido pelo Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Lavras, obtido a partir de plantas de cafeeiro infectadas a campo. A bactéria foi cultivada, em meio Kado 523 (KADO; HESKETT, 1970), logo após incubada em BOD a  $28 \pm 2^\circ$  C, com fotoperíodo de 12h de luz, por 48h. Após esta etapa, as colônias foram suspensas em solução salina (0,85%), e posteriormente a suspensão foi calibrada em espectrofotômetro (600 nm), para a concentração de 0,2 de absorbância.

Para a instalação do experimento, o Biopirol<sup>®</sup> foi adicionado e homogeneizado ao meio de cultura Kado 523, nas doses, 0, 180, 360, 540, 720 e 900  $\mu$ L de produto por 120 mL de meio de cultura, correspondendo a 0, 150, 300, 450, 600 e 750mL do produto/100 L de água. Como testemunha positiva foi utilizado o antibiótico Kasumin<sup>®</sup>, na dose 360  $\mu$ L por 120 mL de meio de cultura, correspondendo a dose comercial de 300 mL100L<sup>-1</sup>.

O meio foi vertido em placas de Petri, após sua solidificação foi adicionado 100  $\mu$ L da suspensão de inóculo da bactéria, distribuído sobre a placa com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas contendo os tratamentos foram incubadas em BOD como descrito anteriormente.

Após este período, as bactérias crescidas nas placas foram suspensas em solução salina (0,85%), posteriormente mediu-se a absorbância da suspensão em espectrofotômetro a 600 nm.

Os dados de absorbância foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de variância, através do programa SISVAR<sup>®</sup> (FERREIRA, 2011).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O isolado de *P. syringae* pv. *garcae* apresentou redução significativa na absorvância com o aumento da concentração de Biopiro<sup>®</sup> (Tabela 1), evidenciando o efeito bactericida do produto.

**Tabela 1.** Efeito de diferentes concentrações de Biopiro<sup>®</sup> e do antibiótico Kasumin<sup>®</sup> no crescimento do isolado 57 de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* *in vitro*. (Muzambinho, 2018).

Tratamentos ( $\mu\text{L}$ de Biopiro <sup>®</sup> 120 mL <sup>-1</sup> )	Isolado 57 (Absorbância)
0	1,670 a*
180	1,590 a
360	0,260 b
540	0,006 c
720	0,005 c
900	0,007 c
Kasumin <sup>®</sup>	0,009 c
CV(%)	10,75

\*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  $y = \sqrt{(x+0,5)}$ .

Observa-se que a dose de Biopiro<sup>®</sup> de 180  $\mu\text{L}$  por 120 mL de meio promoveu apenas 4,7% de redução na absorvância da suspensão bacteriana comparado com a testemunha. Com o aumento da dose de Biopiro<sup>®</sup> para 360  $\mu\text{L}$  por 100 mL de meio obteve-se 84,4 % de redução na absorvância. A partir da dose de 540  $\mu\text{L}$  por 120 mL de meio o Biopiro<sup>®</sup> inibiu desenvolvimento da bactéria *in vitro*, quase completamente, reduzindo a absorvância em 95,8 a 99,7% comparado a testemunha. Se igualando ao tratamento químico Kasumin<sup>®</sup>, com redução de 99,4%.

Os resultados do presente trabalho diferem do encontrado por GOULART et al. (2017), em que avaliando o efeito de diferentes concentrações de Biopiro<sup>®</sup> no crescimento de *P. syringae* pv. *garcae* *in vitro*, verificaram que a partir da dose de 200  $\mu\text{L}$  por 100 mL houve inibição completa do crescimento bacteriano. No entanto, deve-se considerar que os autores trabalharam com outro isolado. O Biopiro<sup>®</sup> a partir da dose de 540  $\mu\text{L}$  por 120 mL foi tão eficiente quanto o antibiótico sintético Kasumin<sup>®</sup> no controle da bactéria. Pode-se inferir que tal resultado é uma vantagem para o produtor, pois o Biopiro<sup>®</sup> é um composto natural não tóxico ao aplicador e ainda tem propriedades nutricionais (TSUZUKI et al., 2000).

No caso do cafeeiro, o Biopiro<sup>®</sup> é recomendado na dose de 200 mL por 100 L de água como fertilizante foliar, no entanto, de acordo com os resultados deste trabalho, o produto poderia ter efeito no controle da mancha aureolada a partir de 450 mL por 100 L de água. Vale ressaltar que testes em casa de vegetação e a campo serão necessários para verificar sua eficiência no controle desta bacteriose.

#### 4. CONCLUSÃO

O Biopiról<sup>®</sup> é eficiente no controle do isolado 57 de *P. syringae* pv. *garcae* *in vitro* a partir da concentração de 540 µL por 100 mL de meio de cultura.

#### 5. REFERÊNCIAS

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.

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

FURTADO, G R.; PEREIRA, R.T.G.; ZANETTI, R.; SOUZA-SILVA, A. Efeito do ácido pirolenhoso *in vitro* sobre isolados de *Botrytis cinerea*, *Cylindrocladium clavatum* e *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, sup., p. 112, 2002.

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*. In: 50º Congresso brasileiro de Fitopatologia. Uberlândia, 2017. **Anais**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia.

JESUS JUNIOR, W.C.J.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, H.S.; VALE, F.X.R.; SILVA, C.L. Controle químico da mancha aureolada do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.61, (Suplemento). 2002.

JOJIMA, E. P.; GODOY, S.H.S.; MUNIN, S.F.; TONIATO, A.; QUEIROZ, A.R.S.; SOUSA, M.L.R.; FERNANDES, M.A. Avaliação da atividade inibitória do extrato pirolenhoso sobre o crescimento de bactérias. In: SIICUSP 2014 – 22º Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP. **Anais**. Piracicaba: 2014.

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

PIETA,S; GAVASSONI, W.L.; BACCHI, L.M.A; JORDAN,R.A. Eficácia do extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) no controle *in vitro* de patógenos da soja. 50º Congresso brasileiro de Fitopatologia. Uberlândia, 2017. **Anais**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia.

PORTO, P. R.; SAKITA, A. E. N.; NAKAOKA, M. S. Efeito da aplicação do extrato pirolenhoso na germinação e no desenvolvimento de mudas de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Instituto Florestal**, São Paulo, n. 31, p.15-19, 2007.

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

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

YOTZCHETZ JÚNIOR, R. **Produção de carvão vegetal de resíduos madeireiros da espécie timbori *Enterolobium contortisiliquum* em forno de alvenaria**. Monografia (Eng. Florestal) – Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta. 2009. 46p