

Análise da estrutura da comunidade microbiana em solo de áreas com resinose submetidas a tratamentos com fungicidas

João Manoel da Silva¹, Marcelo Ferreira Fernandes², Viviane Talamini³, Frederico Alberto de Oliveira⁴, Carlos Carneiro dos Santos⁵

Resumo

O coqueiro é uma das plantas cultivadas de maior importância no mundo, sendo a sua produção afetada por inúmeros fatores, inclusive doenças. A resinose do coqueiro é uma das principais doenças que afeta esta cultura e tem como agente etiológico o fungo *Thielaviopsis paradoxa*. O uso de fungicidas para o controle desta doença está em fase de testes. Devido ao fato do tratamento do estipe com pulverização de fungicidas propiciar o molhamento do solo via deriva objetivou-se com este estudo analisar possíveis alterações na estrutura das comunidades microbianas (ECM) das áreas tratadas, visto que o patógeno causador da resinose tem alta capacidade de sobrevivência no solo e que mudanças na comunidade microbiana podem interferir na sua população. Para tanto foram coletadas amostras de solo de áreas com alta incidência da resinose que receberam os seguintes tratamentos: 1- testemunha sem tratamento, 2- tiofanato metílico, 3- difenoconazol, 4- tiabendazol. A técnica dos perfis cromatográficos de ácidos graxos de fosfolípidios (PL-FAME) derivados de microrganismos foi empregada nas amostras para avaliar mudanças nas ECM estabelecidas no solo sob cada tratamento. Gradientes significativos foram observados entre as amostras para os marcadores de ácidos graxos típicos de bactérias gram positivas e actinomicetos, os quais

¹ Engenheiro-agrônomo, mestrando Agricultura e Biodiversidade da UFS, bolsista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE

² Engenheiro-agrônomo, doutor em Microbiologia do Solo, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor, professor da Faculdade AGES, Paripiranga, BA.

⁵ Engenheiro-florestal, mestrando em Ciências Florestais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA.

predominaram nas amostras sem tratamento com fungicidas, e nos marcadores típicos de bactérias gram negativas, fungos micorrízicos e fungos saprófitas, os quais predominaram nas amostras de parcelas que receberam aplicação de fungicidas. No entanto, diferenças significativas na ECM não foram observadas nas comparações entre os tratamentos avaliados, no período deste estudo.

Palavras-chave: estrutura microbiana do solo, fungicidas, perfis de ácidos graxos, *Thielaviopsis paradoxa*.

Introdução

A resinose do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) tem como agente etiológico o fungo *Thielaviopsis paradoxa*, anamorfo do ascomiceto *Ceratocystis paradoxa*. Este fungo apresenta ampla capacidade de sobrevivência no solo, mesmo na ausência dos restos culturais do hospedeiro, pois produz estruturas de resistência denominadas clamidósporos. Este fungo pode causar infecção através de ferimentos e das fissuras naturais de crescimento do estipe da planta (NELSON, 2005).

Entre as estratégias de controle da doença, está em fase de testes o uso do controle químico, entretanto, pouco se conhece sobre o impacto do uso destes produtos na comunidade microbiana do solo das áreas que recebem certa quantidade destes via deriva ou escurrimto. As análises de perfis de ácidos graxos são utilizadas para investigar as respostas da estrutura da comunidade microbiana a diversos fatores como uso do solo (WALDROP et al., 2000; CHAER et al., 2009a), sistemas de cultivo (ESPERSCHÜTZ et al., 2007), preparo do solo (CHAER et al., 2009b), adição de resíduos orgânicos (WATTS, 2010), xenobióticos (ZHANG et al., 2010), além de outros.

As populações microbianas do solo sofrem acentuada influência do ambiente, podendo os microrganismos ou seus processos serem alterados em função do manejo empregado. Assim, informações sobre as alterações na comunidade microbiana em solos com alta incidência da resinose e que receberam tratamentos com fungicidas podem fornecer subsídios para o manejo do solo em áreas com alta incidência de *T. paradoxa*.

O presente trabalho teve como objetivos analisar a estrutura e as possíveis alterações na estrutura da comunidade microbiana do solo de plantio de coqueiro com alta incidência da resinose e submetidas ao tratamento químico com fungicidas.

Material e Métodos

As amostras de solo para análise da estrutura das comunidades microbianas (ECM) foram coletadas de áreas submetidas ao tratamento com fungicidas tiofanato metílico, difenoconazol, tiabendazol e testemunha sem uso de fungicidas. Essas áreas receberam quatro pulverizações com os produtos em intervalo de 15 dias. As amostras do solo foram coletadas 15 dias após a última pulverização.

Para coleta das amostras do solo a camada da serapilheira foi removida e o solo foi coletado na camada de 0-10 cm de profundidade. Ao redor de cada planta que recebeu os tratamentos e das plantas não tratadas, foram retiradas amostras compostas de quatro subamostras, e ao final totalizaram-se três amostras por tratamento. Após a coleta, o solo foi encaminhado para o laboratório de Microbiologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros para ser analisado.

Para avaliar mudanças na estrutura da comunidade microbiana foi utilizada a composição dos ésteres de metila de ácidos graxos derivados de fosfolipídios (PL-FAMES, phospholipid fatty acids methyl esters). A metodologia utilizada (WHITE; RINGELBERG, 1998) foi composta por três etapas: i) extração dos lipídios totais do solo com uma mistura monofásica de solventes (clorofórmio: metanol: tampão fosfato, 1:2:0,8); ii) fracionamento dos lipídios totais em classes de lipídios neutros, glicolipídios e fosfolipídios, após eluição do extrato total em coluna de sílica com clorofórmio, acetona e metanol, iii) geração dos PL-FAMES por hidrólise alcalina branda (KOH 0,2M em metanol, 40°C, 15 min). Os PL-FAMES foram redissolvidos em volume conhecido de hexano e transferidos para um frasco "GC" para determinação da sua composição por cromatografia gasosa (CG-FID). A rampa de temperatura do cromatógrafo variou de 170 a 280°C, a uma velocidade de 4°C min⁻¹. A identificação dos picos foi baseada no comprimento equivalente das cadeias (FERNANDES,

2007). PL-FAMES típicos de fungos (18:1 ω 9c e 18:2 ω 6c), bactérias gram-negativas (18:1 ω 7c, 17:0cy, 19:0cy), bactérias gram positivas (i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0), actinomicetos (10-Me16:0, 10-ME17:0, 10-Me18:0), fungos arbuscular-micorrízicos (16:1 ω 5c) foram usados como biomarcadores dessa taxa. O somatório dos ácidos graxos de fosfolípidios foi utilizado como estimativa da biomassa microbiana (FERNANDES, 2007). A análise de ordenação multivariada pela técnica do NMS foi utilizada para os dados de perfis de PL-FAMES para representar as distâncias entre amostras de solo quanto à ECM. O procedimento estatístico de MRPP (multiresponse permutation procedures) foi utilizado para testar a hipótese de diferença entre a ECM das amostras sob diferentes tratamentos.

Resultados e Discussão

De acordo com a técnica de ordenação NMS, uma representação bidimensional foi capaz de representar 93% das variações nos perfis de PL-FAMES entre as amostras de solo (Figura 1). O eixo 1 representou a grande maioria desta variação (78%), sendo as amostras não tratadas (tratamento 1) predominantemente posicionadas à direita do gráfico e as tratadas (tratamentos 2, 3 e 4), à esquerda. Gradientes crescentes e significativos nos marcadores de ácidos graxos típicos de bactérias gram positivas e actinomicetos foram observados da esquerda para a direita do eixo 1, na direção das amostras não tratadas, ao passo que os de marcadores típicos de bactérias gram negativas, fungos micorrízicos e fungos saprófitas foram crescentes na direção oposta, onde predominaram amostras tratadas com fungicidas. No entanto, de acordo com o procedimento estatístico de MRPP, para comparação de médias multivariadas, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) na ECM entre quaisquer tratamentos comparados.

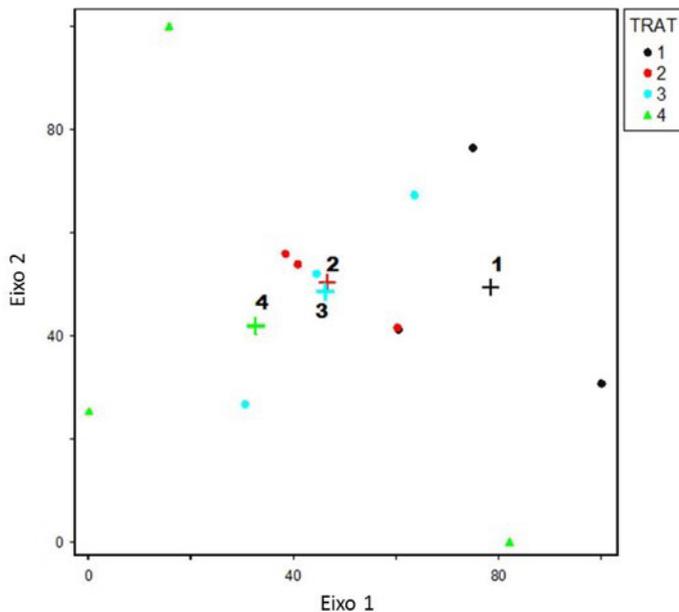


Figura 1. Representação gráfica das distâncias entre amostras de solo quanto à estrutura das comunidades microbianas, acessada pela análise da composição dos ácidos graxos de fosfolípidios microbianos (PL_FAMES) extraídos do solo. A representação gráfica foi obtida pela técnica de ordenação multivariada *non-metric multidimensional scaling* (NMS) e representou 93% da variação total observada na composição de PL-FAMES das amostras. Esta variação total representada foi partilhada em 78% e 15% entre os eixos 1 e 2, respectivamente. As cruzes representam os centroides da distribuição das amostras sob cada tratamento, de acordo com a composição dos PL-FAMES. TRAT: Tratamentos: 1- Testemunha não tratada, 2- Tiofanato metílico, 3- Difenocanazol, 4- Tiabendazol.

Conclusões

Gradientes significativos foram observados entre as amostras para os marcadores de ácidos graxos típicos de bactérias gram positivas e actinomicetos, os quais predominaram nas amostras que não receberam fungicidas, e nos marcadores típicos de bactérias gram negativas, fungos micorrízicos e fungos saprófitas, os quais predominaram nas amostras de parcelas com tratamento com fungicidas. No entanto, diferenças significativas na ECM não foram observadas nas comparações entre os tratamentos avaliados, no período deste estudo.

Referências

CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F.; MYROLD, D.; BOTTOMLEY, P.

Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils. **Microbial Ecology**, New York, v. 58, p. 414-424, 2009a.

CHAER, G. M.; FERNANDES, M. F. MYROLD, D.; BOTTOMLEY, P. Shifts in microbial community composition and physiological profiles across a gradient of induced soil degradation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 73, n. 4, p. 1327-1334, 2009b.

ESPERSCHÜTZ, J.; GATTINGER, A. MÄDER, P.; SCHLOTTER, M.; FLIESSBACH, A. Response of soil microbial biomass and microbial structures under conventional and organic farming systems under identical crop rotations. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 61, p. 26-37, 2007.

FERNANDES, M. F. **Fatty acid profiling of soil microbial communities: a comparison of extraction methods and temporal dynamics in plant residue amended soils**. 2007. 161 f. Tese (Doutorado) - Oregon State University.

NELSON, S. Stem bleeding of coconut palm. **Plant Disease**, Honolulu, 2005. Disponível em: <<http://www.ctahr.hawaii.edu/freepubs/pdf/PD-30.pdf>>. Acesso em: 01 ago. 2015.

WHITE, D. C.; RINGELBERG, D. B. Signature lipid biomarker analysis. In: ROBERT S. BURLAGE, R. S.; ATLAS, R.; STAHL, D.; GEESEY, G.; SAYLER, G. (Ed.). **Techniques in microbial ecology**. New York: Oxford University Press, 1998. p. 255-272. (Signature lipid biomarker analysis).

WALDROP, M. P.; BALSER, T. C.; FIRESTONE, M. K. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 32, n. 13, p. 1837-1846, 2000.

WATTS, D. B. Soil microbial community dynamics as influenced by composter dairy manure, soil properties, and landscape position. **Soil Science**, Madison, v. 175, p. 474-486, 2010.

ZHANG, C.; XU, J.; LIU X.; DONG, F.; KONG, Z.; SHENG, Y.; ZHENG, Y.
Impact of imazethapyr on the microbial community structure in agricultural
soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 81, p. 800-806, 2010.