

## Efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a comunidade microbiana do filoplano da soja em estufa de topo aberto

**Ricardo Contreira Lessin<sup>1</sup>, Raquel Ghini<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UNESP/FCA, Fazenda Experimental Lageado, CP 237, 18610-307 Botucatu, SP. <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente, CP 69, 13820-000, Jaguariúna (SP), E-mail: [raquel@cnpma.embrapa.br](mailto:raquel@cnpma.embrapa.br)

### RESUMO

A concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico está se elevando nas últimas décadas como consequência das ações antrópicas. Essa alteração, além de intensificar o fenômeno do efeito estufa, pode afetar diretamente o manejo de algumas plantas e microrganismos de interesse agrícola. O objetivo desse estudo foi avaliar a comunidade microbiana de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. e leveduras presentes no filoplano da soja cultivada em estufa de topo aberto com elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, constituído por três tratamentos: testemunha sem estufa; estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub>; estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup>, com três repetições. Dois ensaios foram realizados, sendo o primeiro em março (Ensaio 1) e o segundo, em agosto de 2007 (Ensaio 2). O isolamento dos microrganismos do filoplano foi realizado a partir de plantas de soja (cultivar FT-Estrela) no estágio de desenvolvimento V4 (quarto nó e terceiro trifólio aberto), 30 dias após a emergência das plântulas. Fez-se a coleta do segundo trifólio de três plantas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela. Em seguida, as folhas foram colocadas em frascos contendo solução tampão fosfato esterilizado e submetidas a tratamento em ultra-som por 10 minutos. Para cada suspensão, foram feitas três diluições (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>), com três repetições. Aliquotas das suspensões obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura específicos: King B para seleção de *Pseudomonas* spp.; extrato de malte, para leveduras; e meio de Martin para *Trichoderma* spp. Para o isolamento seletivo de *Bacillus* spp., a primeira diluição (10<sup>-1</sup>) foi submetida a 80°C por 10 minutos, em banho-maria, antes da transferência para meio de BDA. A avaliação dos microrganismos foi realizada pela contagem das unidades formadoras de colônia por área foliar (ufc/cm<sup>2</sup>). No Ensaio 1, não houve efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> sobre a comunidade de *Bacillus* spp., porém houve redução de *Pseudomonas* spp.. No Ensaio 2, o tratamento aumentou as comunidades de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. O enriquecimento da atmosfera com CO<sub>2</sub> não mostrou efeito sobre *Trichoderma* spp. e leveduras. Os resultados demonstram que o aumento da concentração do gás pode ter efeito sobre a microbiota do filoplano, especialmente na comunidade de bactérias.

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento da concentração de dióxido de carbono na atmosfera vem sendo observado desde os primórdios da Revolução Industrial. Esse aumento é devido principalmente à queima de combustíveis fósseis e ao desmatamento. Os níveis de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentaram de 277 ppm para 371 ppm, sendo que mais da metade desse aumento ocorreu nos últimos 50 anos (MARENGO, 2006). O aumento da concentração desse gás na atmosfera, além de colaborar para a intensificação do efeito estufa no planeta, pode vir a causar também, de forma direta, modificações no comportamento de plantas e microrganismos de interesse agrícola.

Segundo Sherm *et al.* (2000), os microrganismos são um dos primeiros organismos a demonstrar os efeitos das mudanças do ambiente. Isso ocorre devido às numerosas populações, facilidade de multiplicação e dispersão e curto tempo entre gerações. Em relação às doenças de plantas, a alta concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico pode causar alterações na ocorrência e na severidade, podendo afetar tanto o patógeno como o hospedeiro, assim como a interação patógeno-hospedeiro (GHINI, 2005). Os microrganismos não patogênicos, que colonizam o filoplano das plantas, também podem ser afetados pela elevação da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, visto que qualquer tipo de alteração na superfície da folha e no seu ambiente é capaz de alterar o equilíbrio da comunidade microbiana do filoplano, como a poluição e a aplicação de produtos químicos (MANNING & TIEDMANN, 1995; GHINI, 1991; GHINI, 2005). Quando se trata de controle biológico de doenças de plantas, esse fenômeno adquire maior importância, pois muitos desses microrganismos do filoplano são antagonistas a fitopatógenos, indispensáveis ao controle natural de doenças. Essas alterações interferem na ocorrência de doenças, pois além do significado ecológico, apresentam um significado prático na interação patógeno-hospedeiro-comunidade microbiana do filoplano (BETTIOL, 1997).

A colonização do filoplano pelos microrganismos ocorre desde o início do desenvolvimento das plantas. A seqüência de sucessão microbiana, considerando a população dominante nos diferentes estádios, geralmente, é iniciada pelas bactérias, a seguir desenvolvem-se as leveduras, e por fim a comunidade de fungos filamentosos (BETTIOL, 1997). Assim sendo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a comunidade microbiana de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. e leveduras presentes no filoplano da soja cultivada em ambiente com elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório e na área experimental da Embrapa Meio Ambiente, localizada na cidade de Jaguariúna, SP. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, constituído por três tratamentos: testemunha sem estufa (T); estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub> (E); estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup> (E+CO<sub>2</sub>), com três repetições.

Dois experimentos foram realizados, sendo o primeiro em março e o segundo em agosto de 2007. Nas parcelas experimentais foi semeada a cultivar FT-Estrela, com espaçamento de 15 cm entre linhas e de 5 cm entre plantas.

O isolamento dos microrganismos do filoplano foi realizado a partir de plantas de soja no estádio de desenvolvimento V4 (quarto nó e terceiro trifólio aberto), 30 dias após a emergência

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

das plântulas. Fez-se a coleta do segundo trifólio de três plantas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela. As folhas foram destacadas e, em seguida, colocadas em frascos de 200 mL contendo 100 mL de solução tampão fosfato esterilizado, e em seguida submetidas a tratamento em ultra-som por 10 minutos (GHINI & VITTI, 1993). Para cada suspensão, foram feitas três diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ), com três repetições. Alíquotas das suspensões obtidas foram transferidas para placas de Petri contendo meios de cultura específicos: King B para seleção de *Pseudomonas* spp.; extrato de malte, para leveduras; e meio de Martin para *Trichoderma* spp. (MELO & SANHUEZA, 1990). Para o isolamento seletivo de *Bacillus* spp., a primeira diluição ( $10^{-1}$ ) foi submetida a 80°C por 10 minutos, em banho-maria, antes da transferência para meio de BDA (BETTIOL, 1990).

Medidas de comprimento e largura das folhas foram utilizadas para a determinação da área foliar aproximada. A avaliação dos microrganismos foi realizada pela contagem das unidades formadoras de colônia por centímetro quadrado de folha (ufc/cm<sup>2</sup>).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos no Ensaio 1, a comunidade de *Bacillus* spp. foi maior para o tratamento (T), diferindo significativamente somente do tratamento (E+CO<sub>2</sub>). No entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos (E) e (E+CO<sub>2</sub>), mostrando que a elevação do CO<sub>2</sub> atmosférico não teve efeito nesse grupo de microrganismos (Tabela 1).

A comunidade de *Pseudomonas* spp. no Ensaio 1, também foi maior na testemunha sem estufa (T), diferindo significativamente somente do tratamento (E+CO<sub>2</sub>). Por outro lado, houve diferença significativa entre os tratamentos (E) e (E+CO<sub>2</sub>), assim sendo a elevação de CO<sub>2</sub> atmosférico pode ter inibido a comunidade de *Pseudomonas* spp. no filoplano da soja.

No Ensaio 2, as comunidades de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. foram maiores no tratamento (E+CO<sub>2</sub>), portanto houve efeito significativo da elevação do CO<sub>2</sub> atmosférico no aumento desses microrganismos no filoplano. Nas comunidades de *Trichoderma* spp. e leveduras, tanto no Ensaio 1 como no Ensaio 2, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não mostrou nenhum efeito significativo.

Os resultados demonstram, de modo geral, que o aumento da concentração do gás pode ter efeito sobre a microbiota do filoplano, especialmente na comunidade de bactérias. No entanto, é necessária a realização de novos trabalhos para a obtenção de conhecimentos sobre os efeitos que o CO<sub>2</sub> pode causar sobre os microrganismos do filoplano e, conseqüentemente, sobre o controle de doenças de plantas.

## IX Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas

Tabela 1. Comunidade microbiana do filoplano da soja.

| Tratamentos <sup>1</sup> | Microrganismos (ufc/cm <sup>2</sup> ) |          |                         |          |                         |          |           |         |
|--------------------------|---------------------------------------|----------|-------------------------|----------|-------------------------|----------|-----------|---------|
|                          | <i>Bacillus</i> spp.                  |          | <i>Pseudomonas</i> spp. |          | <i>Trichoderma</i> spp. |          | Leveduras |         |
|                          | Ensaio1                               | Ensaio 2 | Ensaio1                 | Ensaio 2 | Ensaio1                 | Ensaio 2 | Ensaio1   | Ensaio2 |
| T                        | 136,0 a <sup>2</sup>                  | 111,6 b  | 27640,5 a               | 317,7 ab | 908,2 a                 | 283,1 a  | 5503,1 a  | 27,6 a  |
| E                        | 75,7 ab                               | 85,9 b   | 16782,9 a               | 208,6 b  | 547,1 b                 | 244,0 a  | 2508,1 a  | 14,9 a  |
| E+CO <sub>2</sub>        | 48,3 b                                | 315,2 a  | 4098,0 b                | 739,8 a  | 467,5 b                 | 76,7 a   | 2508,1 a  | 13,9 a  |

<sup>1</sup> Tratamentos: testemunha sem estufa (T); estufa com atmosfera ambiente sem injeção de CO<sub>2</sub> (E); estufa com injeção de CO<sub>2</sub> até atingir a concentração de 550 µL.L<sup>-1</sup> (E+CO<sub>2</sub>).

<sup>2</sup> Dados seguidos da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

## REFERÊNCIAS

BETTIOL, W. Biocontrole na filosfera: problemas e perspectivas. In: LUZ, W.C., ed. **Revisão anual de patologia de plantas (RAPP)** Passo Fundo, v.5, p.59-97, 1997.

GHINI, R. 1991. Efeito de fungicidas sobre microrganismos não alvo. **Summa Phytopathologica**, v.19, p.62-63, 1991.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doença de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 104p, 2005.

GHINI, R.; VITTI, A. J. Controle integrado de *Botrytis cinerea* na cultura do morango. **Summa Phytopathologica**, v.19, n. 1, p.10-13, 1993.

MELO, I. S.; SANHUEZA, R. M. **Métodos de seleção de microrganismos antagonicos a fitopatógenos: manual técnico**. Jaguariúna: Embrapa/CNPMA, 72p, 1995.

SHERM, H.; SUTHERST, R. W.; GTON, R.; INGRAM, J. S. I. Global networking for assessment of impacts of global change on plants pests. **Environmental Pollution**, v. 108, p. 333-341, 2000.

MARENGO, J. A. **Mudanças climáticas e seus efeitos sobre a biodiversidade: caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI**. Série Biodiversidade, v. 26, 212p, 2006.

MANNING, W. J.; TIEDEMANN, A. V. Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), ozone (O<sub>3</sub>), and Ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. **Environmental Pollution**, v. 88, n.2, p. 219-245, 1995.