

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA SUCROALCOOLEIRA
CURSO DE TECNOLOGIA EM PRODUÇÃO SUCROALCOOLEIRA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

THIAGO MARCEL GALDINO OLINTO

**CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADAS COM *FUSARIUM SP.* E TRATADAS COM *METARHIZIUM
ANISOPLIAE*.**

João Pessoa – PB
Abril 2024

THIAGO MARCEL GALDINO OLINTO

**CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADAS COM *FUSARIUM SP.* E TRATADAS COM *METARHIZIUM
ANISOPLIAE*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Paraíba, em
cumprimento aos requisitos para obtenção de
certificado de conclusão do Curso de
Tecnologia em Produção Sucroalcooleira

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Marcia Aparecida
Cezar

João Pessoa – PB
Abril 2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

O46c Olinto, Thiago Marcel Galdino.

Características agronômicas de mudas de
cana-de-açúcar inoculadas com *Fusarium* Sp. e tratadas
com *Metarhizium Anisopliae* / Thiago Marcel Galdino
Olinto. - João Pessoa, 2024.

32 f. : il.

Orientação: Marcia Aparecida Cezar.
TCC (Graduação) - UFPB/CTDR.

1. Saccharum. 2. Podridão do colmo. 3. Controle
biológico. I. Cezar, Marcia Aparecida. II. Título.

UFPB/CTDR

CDU 664

THIAGO MARCEL GALDINO OLINTO

**CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR
INOCULADAS COM *FUSARIUM SP.* E TRATADAS COM *METARHIZIUM
ANISOPLIAE*.**

Aprovado em 25/04/2024

BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Marcia Aparecida Cezar
Orientador – UFPB



Prof.ª Dr.ª Márcia Helena Pontieri
Examinadora - UFPB



Prof.ª Dra. Ângela Lucínia Urtiga Vasconcelos
Examinadora - UFPB

Esse TCC aos meus avós maternos Ana Maria e Oscar Olinto e aos paternos Senhor José e Dona Aquilina que embora não estejam mais entre nós sei que estariam felizes com meu sucesso.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Agradeço aos meus pais Maria Helena e Manoel Galdino e minha irmã Lyvia Helena (Embora alguns achem que ela seja imaginária), por sempre me apoiarem em minhas escolhas e decisões, mesmo algumas não sendo ortodoxas.

Agradeço a minha noiva Chayanne Ferreira, por sempre estar ao meu lado, me apoiando e me ajudando nos momentos em que eu mais precisei.

Agradeço a minha orientadora Prof.^a Dra^a Márcia Aparecia Cezar por me proporcionar momentos inesquecíveis em projetos, pesquisas, viagens e extensões, e em sala de aula, além disso ainda deu um grande apoio durante a escrita desse TCC.

Agradeço ao corpo docente do Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira, por ampliar nessa área.

Agradeço aos meus amigos em especial Rachel Reis, Pereira e Santana, pelas risadas, pelo bullying sofrido, por quase uma mão fraturada, mas acima de tudo pela companhia e apoio nos momentos difíceis.

“Aqui, no entanto, nós não olhamos para trás por muito tempo. Nós continuamos seguindo em frente, abrindo novas portas e fazendo coisas novas, porque somos curiosos. E a curiosidade continua nos conduzindo por novos caminhos. Siga em Frente”.

Walt Disney.

OLINTO, Thiago Marcel Galdino. **CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADAS COM *FUSARIUM SP.* E TRATADAS COM *METARHIZIUM ANISOPLIAE***, 2024. Trabalho de conclusão de curso [Graduação em Tecnologia em Produção Sucroalcooleira], Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

RESUMO

O cultivo da cana-de-açúcar é de extrema importância para a economia da Paraíba, sendo fundamental para a geração de empregos e de bioenergia. Apesar disso, a cultura enfrenta desafios fitossanitários, como a ocorrência da broca-da-cana e podridões no colmo, que causam perdas significativas na produção de açúcar e etanol. O controle da podridão do colmo, comumente é feito pela aplicação de fungicidas. Sendo assim, a utilização de fungos entomopatogênicos, como o *Metarhizium anisopliae*, pode ser uma estratégia de controle biológico da podridão em cana-de-açúcar. Dessa forma, esse trabalho objetivou avaliar a atuação de *Metarhizium anisopliae* no desenvolvimento de mudas pré brotadas (MPB) com e sem a interação com *Fusarium* spp. causador de podridões na cana-de-açúcar. O trabalho foi conduzido no Centro de Tecnologia de Desenvolvimento Regional, da Universidade Federal da Paraíba. O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e cinco repetições, totalizando 20 vasos, onde foram empregados a aplicação de Controle sem aplicação de *Metarhizium* e *Fusarium* (T0); aplicação de *Metarhizium* (T1); aplicação de *Metarhizium* e *Fusarium* (T2); e aplicação de *Fusarium* (T3). Foram realizadas as avaliações de altura dos colmos, espessura e quantidade de folhas, feitas nos intervalos de 21, 42 e 62 dias. Ao final do experimento foram avaliados os pesos frescos e secos das raízes e da parte aérea, e o comprimento das raízes de cana-de-açúcar. As avaliações do efeito do agente de biocontrole permitiram identificar que plantas tratadas com *Metarhizium* (T1) tiveram a maior altura em relação às plantas inoculadas com *Fusarium* (T4). Plantas tratadas com *Metarhizium* e *Fusarium* (T2) tiveram a maior espessura até os 42 dias, além de maior número de folhas, e maior média de peso fresco das raízes. A aplicação de *Metarhizium* (T1) resultou em maiores pesos frescos e secos da parte aérea das plantas.

Palavras-Chave: *Saccharum*. Podridão do colmo. Controle biológico

OLINTO, Thiago Marcel Galdino. **CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE MUDAS DE CANA-DE-AÇÚCAR INOCULADAS COM *FUSARIUM SP.* E TRATADAS COM *METARHIZIUM ANISOPLIAE***, 2024. Trabalho de conclusão de curso [Graduação em Tecnologia em Produção Sucroalcooleira], Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

ABSTRACT

The cultivation of sugar cane is extremely important for the economy of the State of Paraíba, being fundamental for the generation of jobs and bioenergy. Despite this, the crop faces phytosanitary challenges, such as the occurrence of the sugarcane borer and stem rot, which cause significant losses in sugar and ethanol production. Stem rot control is commonly done by applying fungicides. Therefore, the use of entomopathogenic fungi, such as *Metarhizium anisopliae*, can be a strategy for biological control of sugarcane rot. In this way, the effect of *M. anisopliae* on the growth of sugarcane in interaction with the pathogen *Fusarium* spp. was evaluated. The work was conducted at the Regional Development Technology Center, at the Federal University of Paraíba. The research was carried out in a completely randomized design, with four treatments and five replications, totaling 20 pots, where the application of Control without application of *Metarhizium* and *Fusarium* (T0) was used; application of *Metarhizium* (T1); application of *Metarhizium* and *Fusarium* (T2); and application of *Fusarium* (T3). The height and thickness of the stems and number of leaves at 21, 42 and 62 days after planting. The fresh and dry weights of the roots and shoots, and the length of the sugarcane roots at the end of the experiment were evaluated. Assessments of the effect of the biocontrol agent made it possible to identify which plants treated with *Metarhizium* (T1) had the greatest height compared to plants inoculated with *Fusarium* (T4). Plants treated with *Metarhizium* and *Fusarium* (T2) had the greatest thickness up to 42 days, in addition to the greatest number of leaves, and the highest average fresh weight of the roots. The application of *Metarhizium* (T1) resulted in higher fresh and dry weights of the aerial part of the plants.

Keywords: *Saccharum*. Stem Rot. Biological control

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeito de *Metarhizium* na altura de plantas de cana-de-açúcar em três períodos de avaliação

Tabela 2. Efeito de *Metarhizium* na espessura do colmo de cana-de-açúcar em três períodos de avaliação.

Tabela 3. Efeito de *Metarhizium* no número de folhas de cana-de-açúcar em três períodos de avaliação.

Tabela 4. Efeito de *Metarhizium* nos pesos fresco da raiz e parte aérea, pesos seco da raiz e parte aérea e comprimento das raízes de plantas de cana-de-açúcar aos 62 dias após o plantio.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - *Metarhizium* sendo cultivado em sacos de arroz parboilizado. João Pessoa, abril de 2024
- Figura 2** - Desinfestação superficial de gemas de colmos sadios da variedade RB 867515 de cana-de-açúcar. João Pessoa, abril de 2024.
- Figura 3** - Medição do comprimento da planta. João Pessoa, abril de 2024.
- Figura 4** - Raízes lavadas antes de serem separadas da planta aérea e serem pesadas. João Pessoa, abril de 2024.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. JUSTIFICATIVA	13
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL:	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	14
3. REFERENCIAL TEORICO	15
3.1. IMPORTÂNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR	15
3.2. PRINCIPAIS DOENÇAS EM CANA-DE-AÇÚCAR	15
3.3. COMPLEXO BROCA-PODRIDÃO	15
3.4. AVANÇOS NO CONTROLE DAS PODRIDÕES DA CANA-DE-AÇÚCAR	15
3.5. CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS NA CANA-DE-AÇÚCAR	16
4. PROCEDIMENTO METODOLOGICO	17
4.1. OBTENÇÃO DE METARHIZIUM ANISOPLIAE	17
4.2. DETERMINAÇÃO DA CONTAGEM DE ESPOROS DESENVOLVIDA NA ASPLAN E PREPARO DA SUSPENSÃO	18
4.3. 19	
4.4. PROTOCOLO DE QUANTIFICAÇÃO DE FUSARIUM SP.	18
4.4.1. Determinação da Contagem e Preparo da Suspensão	18
4.4.2. Inoculação de 19	
4.4.3. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA CANA-DE-AÇÚCAR	20
4.5. OS TRATAMENTOS EMPREGADOS	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÕES	26
7. REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é a maior cultura agrícola do Estado da Paraíba atualmente (IBGE, 2022). De acordo com o Sindicato da Indústria da Fabricação de Alcool no Estado da Paraíba - SINDALCOOL – PB a safra 2022/2023 bateu o recorde com produção de 7,7 milhões de toneladas de cana de açúcar, isso sendo reflexo do aumento na produtividade em toneladas por hectare, mesmo sendo mantida aproximadamente a mesma área plantada na safra anterior. Há uma estimativa de produção de 6,4 milhões de toneladas para a safra 2023/2024. (Novacana, 2022).

É uma cultura que anualmente alavanca o setor agrícola e a economia nacional, principalmente pela capacidade de produção e geração de empregos. Do ponto de vista energético a cana-de-açúcar é o principal resíduo lignocelulósico utilizado para produção de bioenergia. As projeções do governo brasileiro indicam que, para atender às demandas do mercado, a produção deverá ser por volta de 43,81 bilhões de litros até 2026 (MME, 2017).

Apesar do elevado potencial para aumentar a produtividade da cultura, vários problemas fitossanitários como a incidência da broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*), e as podridões do colmo limitam a sua produção. Há decorrência do ataque de colmos pelo fungo e pela broca-da-cana simultaneamente sendo frequentemente relatadas as perdas de 50% a 70% de sacarose (Santiago; Rossetto, 2010).

O ataque de fitopatógenos no colmo e a broca-da-cana, são características do “complexo broca-podridão” que levam a redução da pureza do caldo e menor rendimento de açúcar e etanol, além da contaminação do processo de fermentação alcoólica. (Carvalho et al ,2021)

Além dos ataques internos aos colmos, o complexo broca-podridão pode atrapalhar a germinação da cana-de-açúcar, etapa fundamental para o estabelecimento da cultura no campo, e formação do canavial.

O manejo fitossanitário da broca da cana-de-açúcar envolve a adoção de práticas integradas como o controle químico e/ou biológico com a utilização de inimigos naturais. No caso das podridões, poucos produtos indicados para a cana-de-açúcar estão disponíveis para a sua aplicação (MAPA, 2022). Ressalta-se que o uso de métodos alternativos como a utilização de fungos entomopatogênicos podem apresentar como uma estratégia de controle biológico da podridão em cana-de-açúcar.

No Estado da Paraíba a produção do agente de biocontrole é feita pela Associação dos Plantadores de Cana-de-açúcar (ASPLAN-PB) a qual orienta na utilização em cultivos de cana-

de-açúcar no manejo da cigarrinha da folha (*Mahanarva posticata*). Além da cana-de-açúcar a capacidade antagônica in vitro foi verificada em diversos fitopatógenos provenientes de culturas agrícolas como em feijoeiro, trigo e bananeira (Sasan; Bidochka, 2013; Keyser et al., 2014; Picardal et. al. 2019).

No entanto, não há informações referentes à utilização ou modo de aplicação de *Metarhizium* aplicado preventivamente antes da infecção, tampouco se este pode afetar as características agrônômicas da cana-de-açúcar após sua aplicação. Dessa forma, esse trabalho objetivou avaliar a atuação de *Metarhizium anisopliae* no desenvolvimento de mudas pré brotadas (MPB) em interação com *Fusarium* spp. causador de podridões na cana-de-açúcar.

1.1. JUSTIFICATIVA

O fungo *Fusarium* sp. é causador da podridão vermelha, cujo controle tem sido feito exclusivamente pela aplicação de fungicidas que ao longo da sua utilização pode causar a resistência do patógeno ao produto.

Sabendo se que em muitas vezes o uso de agrotóxicos para o controle de doenças e pragas é aplicado de forma incorreta e irracional, pode causar contaminação dos alimentos, do solo, dos animais e até dos lençóis freáticos, o emprego de outras estratégias do manejo integrado como o controle biológico que consistem em utilizar agentes biológicos para interferir nos processos vitais dos fitopatógenos são extremamente importantes. (Embrapa, 2021)

O fungo *Metarhizium anisopliae* é um dos fungos que se apresenta como agente microbiano de extrema importância dentro do programa de controle biológico, além de ocorrer em diversas regiões e ter sua ação amplamente conhecida, independente do clima.(ASPLAN, 2014)

Um estudo desenvolvido no Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira (DTS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) verificou a eficiência “in vitro” de 52,2 % de *Metarhizium anisopliae* sobre *Fusarium* spp. um dos patógenos causadores da podridão, constituindo o segundo relato de antagonismo de *M. anisopliae* a fitopatógeno, no Brasil, em cana-de-açúcar (Oliveira et al., 2017).

Diante do exposto, é fundamental avaliar o efeito de *Metarhizium anisopliae* em mudas pré brotadas de cana-de-açúcar com ou sem infecção de *Fusarium* sp. uma vez que a ação antagônica do fungo biocontrolador poderá ser ampliada, aumentando assim a implementação de práticas alternativas de controle de doenças que não contaminam o ambiente tampouco o aplicador.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL:

- Avaliar a inoculação de plântulas de cana-de-açúcar com diferentes métodos com *Fusarium sp* e plantio em vasos contendo solo com *Metarhizium anisopliae*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar a inoculação de *Metarhizium anisopliae* pela aplicação da suspensão de esporos direta no solo;
- Avaliar a inoculação de *Fusarium sp* por imersão de gemas em suspensão de esporos;
- Avaliar as características agronômicas da cana-de-açúcar submetida ao tratamento com *Metarhizium anisopliae* e submetida à inoculação com *Fusarium sp*.

3. REFERENCIAL TEORICO

3.1. IMPORTÂNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR

No Brasil o setor sucroenergético tem contribuído no crescimento econômico da agricultura. Assim vemos a produção nacional de cana-de-açúcar na safra 2022/2023 foi de 610.131,4 milhões de toneladas com produtividade de 73.609 kg/ha. A Paraíba obteve uma produção de 7.302,4 milhões de toneladas e produtividade de 62.080 kg/ha, se apresentando assim na segunda posição como estado mais produtivo da região Nordeste (CONAB, 2023). Mesmo com o aumento constante da produtividade, com o aumento das tecnologias na área sucroenergética e com a modificação e seleção genética das plantas, as questões fitossanitárias se mostram diretamente ligados a prejuízos importantes no quesito aumento produtivo, dentre eles as doenças causadas por fungos e pragas podem causar perdas de até 70% da sacarose (Santiago; Rossetto, 2010).

3.2. PRINCIPAIS DOENÇAS EM CANA-DE-AÇÚCAR

Podemos classificar as podridões do colmo como as principais doenças responsáveis por estas perdas na qualidade e rendimento industrial. Atribuídas pela associação de pragas de grande importância na cultura como a broca da cana (*Diatraea saccharalis*) distribuída pelas diversas regiões do país, suas larvas ao se alimentarem das folhas e das bainhas, abrem furos nos colmos e produzem galerias dentro dos mesmos (CTC, 2018).

3.3. COMPLEXO BROCA-PODRIDÃO

As brocas da cana *Diatraea saccharalis*, *Migdolus fryanus* ou *Telchin licus* agem da seguinte forma a fêmea coloca a massa de ovos na folha da cana de açúcar, os ovos eclodem, as larvas se alimentam das folhas e da bainha até conseguirem perfurar o colmo, abrindo galerias onde a broca irá se transformar de pupa em adulto (CTC, 2018). Assim com esse espaço aberto para o meio externo o fungo *Colletotrichum falcatum* da espécie *Fusarium spp*, causam respectivamente a Podridão Vermelha e a Pokkah boeng ou Podridão do Colmo, tais fungos resultam na inversão da sacarose, causam grandes perdas na quantidade de cana colhida e na produtividade desse açúcar (Tokeshi; Rago, 2005). Colmos atacados simultaneamente pelo fungo e pela broca-da-cana, caracterizam o sintoma do “complexo broca-podridão”.

3.4. AVANÇOS NO CONTROLE DAS PODRIDÕES DA CANA-DE-AÇÚCAR

O controle dos patógenos causadores das podridões no Brasil tem sido feito com aplicação de fungicidas, mas atualmente poucos produtos são registrados para eliminar o *C. falcatume* e *Fusarium spp.* em cana de açúcar (Brasil, 2023). Vale salientar que o uso restrito e sem integração com outras medidas de manejo pode ativar o mecanismo de variabilidade ligados à mutação ou reprodução em alguns fungos, esses quando ameaçados podem ser estimulados a expressão de genes com capacidade de ativar a insensibilidade ou resistência a fungicidas. (Lopes et al., 2015; Nanuci, 2021).

3.5. CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS NA CANA-DE-AÇÚCAR

O manejo da doença das plantas tem o interesse de integrar de forma racional, utilizando diferentes métodos o controle físico, cultural, biológico, genético e químico com o objetivo de reduzir a intensidade da doença no campo, evitando danos e perdas e preservando o meio ambiente (Moraes, 2020). Com tudo garantir os cuidados não somente da planta, mas também do trabalhador rural que estará em contato com o produto químico e também da população que irá consumir tais alimentos contaminados por altas doses de fungicidas, agrotóxicos ou herbicidas também é algo que devemos observar.

O efeito antagônico “in vitro” de *Metarhizium spp* a fitopatógenos foi demonstrado contra *Fusarium solani*, causador da podridão da raiz do feijão, *Colletotrichum falcatume*, *Fusarium moniliforme* e *Fusarium spp.* causadores de podridões em cana de açúcar (Sasan; Bidochka, 2013; Siqueira, 2016; Oliveira, 2018).

4. PROCEDIMENTO METODOLOGICO

A pesquisa foi realizada no laboratório de Microbiologia, juntamente com o laboratório de Tecnologia Sucroalcooleira do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), entre os meses de setembro de 2022 a junho de 2023. Nele foram feitas repicagens e multiplicações dos fungos *Metarhizium* e *Fusarium*, além da contagem de esporos e quantificações dos fungos e produção da suspensão que foi usada na infestação do solo com *Metarhizium*, quanto na inoculação das gemas e colmos de cana-de-açúcar com *Fusarium*.

4.1. OBTENÇÃO DE METARHIZIUM ANISOPLIAE

No Estado da Paraíba a produção do agente de biocontrole *Metarhizium anisopliae* é feita pela Associação dos Plantadores de Cana-de-açúcar (ASPLAN-PB).

Foi realizada uma visita técnica ao Laboratório de Controle da ASPLAN, foi demonstrado o controle de qualidade feito com os materiais que foram estudados e como era feita a seleção e produção dos fungos em sacos de arroz parboilizado (Figura 01), além da utilização do detergente líquido neutro para evitar que os esporos formem blocos (grumos) e atrapalhem na hora da contagem. Essas informações foram fundamentais para o aperfeiçoamento da contagem dos fungos.

Figura 1- *Metarhizium* sendo cultivado em sacos de arroz parboilizado. João Pessoa, abril de 2024



Fonte: Própria do autor (2024)

4.2. DETERMINAÇÃO DA CONTAGEM DE ESPOROS DESENVOLVIDA NA ASPLAN E PREPARO DA SUSPENSÃO

- Em um saco plástico foram pesados 100g de arroz e acrescentado 1 litro de água destilada aos poucos;
- Foi agitado o saco para soltar os esporos dos grãos de arroz;
- Vertido o líquido em um Becker com cuidado para não passar os grãos (pois facilitaria na retirada das alíquotas com a pipeta);
- Foi acrescentado uma gota “generosa” de detergente neutro no Becker que serviu como espalhante, para evitar a formação de blocos (grumos) de esporos;
- Colocada uma alíquota na câmara de Neubauer e levar ao microscópio na objetiva de 40x;
- Caso o crescimento fúngico estivesse em alto desenvolvimento haveria dificuldade na contagem, nesse caso a solução pode ser diluída de 1:10, ou seja, 1 ml da solução em 9 ml de água destilada esterilizada (previamente colocada no tubo de ensaio);
- O ideal é que na contagem esteja entre 10 a 50, no máximo 60 esporos por quadrante na câmara de Neubauer.
- No experimento foram usados vasos plásticos de 2,8 litros que foram preenchidos com 2 litros aproximadamente de substrato sem esterilização, e em

seguida adicionaram-se 40 ml da suspensão de 1×10^7 conídios/ml de *Metarhizium* foi depositada em toda a superfície do mesmo.

4.3. OBTENÇÃO DE *FUSARIUM* sp.

O isolado de *Fusarium* sp. foi obtido por Oliveira (2018) e preservado pelo método de Castellani, no qual discos de 5 mm da cultura fúngica são adicionados a frascos de 10 ml contendo água destilada esterilizada e armazenados refrigerados a 5°C em geladeira.

4.4. PROTOCOLO DE QUANTIFICAÇÃO DE *FUSARIUM* SP.

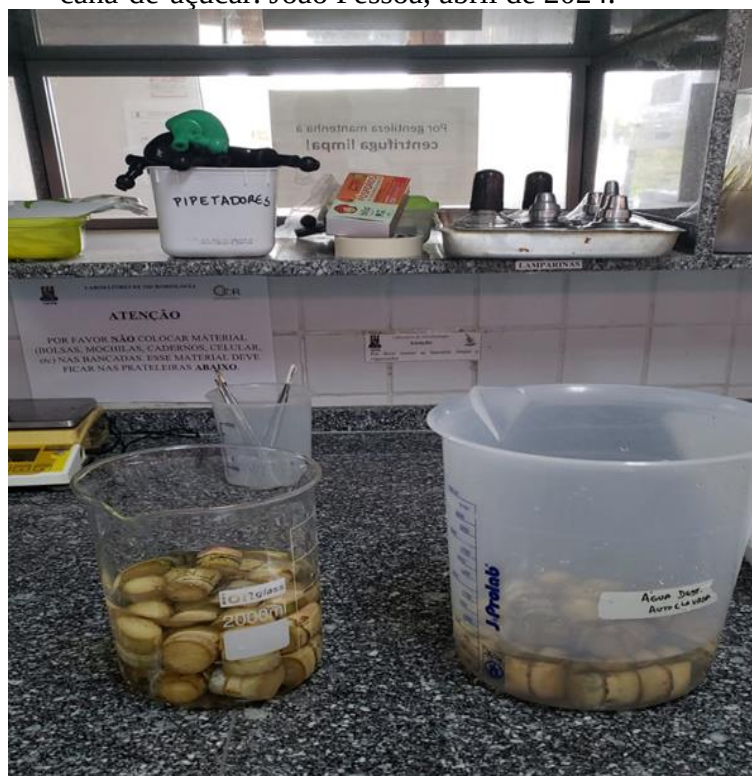
4.4.1. Determinação da Contagem e Preparo da Suspensão

Para o preparo do inóculo, o isolado de *Fusarium* sp foi cultivado em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) acrescido de antibiótico tetraciclina, durante aproximadamente 7 dias a 28°C. Após esse período, foi preparada a suspensão de conídios por meio da adição de água destilada esterilizada as placas e raspagem das colônias utilizando alça de Drigalski. A suspensão obtida foi filtrada com gaze e ajustada para 1×10^5 esporos/ml.

4.4.2. Inoculação de *Fusarium* em Gemas de Cana de Açúcar

Foram obtidas gemas de colmos sadios de cana-de-açúcar da variedade RB 867515, provenientes da estação experimental da ASPLAN, situada na cidade de Mamanguape - PB e que foram recebidos e transportados para o Laboratório de Microbiologia do CTDR/UFPB, onde foram selecionados, lavados e submetidos à desinfestação superficial em solução de hipoclorito de sódio (2%) por aproximadamente 1 minuto, e posteriormente a álcool 70% por aproximadamente 30 segundos, seguida da lavagem em água destilada e esterilizada e posteriormente postos para secar sobre papel toalha.

Figura 2 – Desinfestação superficial de gemas de colmos sadios da variedade RB 867515 de cana-de-açúcar. João Pessoa, abril de 2024.



Fonte: Própria do autor (2024)

Logo após essa fase as gemas foram colocadas em Becker de 2 litros e cobertas pela suspensão de esporos de *Fusarium* durante 30 minutos, em seguida foram transplantados para os vasos plásticos, contendo substrato já infestado previamente com o agente de biocontrole *Metarhizium anisopliae*.

Para garantir a brotação foram plantadas duas gemas de cana-de-açúcar em cada vaso. Foram quatro tratamentos com cinco repetições, dez tratamentos somente com *Metarhizium anisopliae* e dez com *Fusarium colmo* e *Metarhizium anisopliae* no substrato totalizando 20 vasos.

4.4.3. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA CANA-DE-AÇÚCAR

Foram avaliadas aos sete dias a porcentagem de germinação das gemas. As espessuras dos colmos foram obtidas com um paquímetro digital, e a altura das plantas foram avaliadas aos 21, 42 e 62 dias. Ao final do experimento, as plantas foram individualmente esticadas sobre uma superfície plana e o comprimento foi medido com o auxílio de uma trena milimetrada a partir da base da gema até a ponta da maior folha da planta. O tamanho foi registrado em centímetros para todas as repetições de cada tratamento (Figura 3).

Figura 3 – Medição do comprimento da planta. João Pessoa, abril de 2024.



Fonte: Própria do autor (2024)

Posteriormente, foi feita a retirada das plantas dos vasos, lavadas as raízes em água corrente para retirada do excesso de terra (Figura 4). As raízes e partes aérea foram separados e pesados onde obteve-se o peso fresco de ambos. As amostras foram armazenadas em sacos de papel, onde passaram 24 horas em uma estufa de circulação de ar forçada a 50°C, após esse tempo foram pesadas novamente.

Figura 4: Raízes lavadas antes de serem separadas da planta aérea e serem pesadas. João Pessoa, abril de 2024.



Fonte: Própria do autor (2024)

4.5. OS TRATAMENTOS EMPREGADOS

O experimento utilizou o delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos com cinco repetições, totalizando 20 vasos, nos quais foram empregados a aplicação de Controle sem aplicação Metarhizium e Fusarium (T0); aplicação de Metarhizium (T1); aplicação de Metarhizium e Fusarium (T2); e aplicação de Fusarium (T3).

Foram realizadas as avaliações de altura dos colmos, espessura e quantidade de folhas, feitas nos intervalos de 21, 42 e 62 dias. Ao final do experimento foram avaliados os pesos frescos das raízes e da parte aérea, pesos secos das raízes e da parte aérea, e o comprimento das raízes de cana-de-açúcar. Os dados obtidos nos diferentes tratamentos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de ScottKnott ao nível de significância de 5% de probabilidade, utilizando o software Statistic, versão 5.0 (Statsoft, 1995).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da brotação das gemas verificou-se que aos 7 dias após o plantio houve uma taxa de brotação de 100% das gemas, em todos os tratamentos. Semelhante aos resultados obtidos, a taxa de germinação das sementes de milho microbiolizadas com diferentes espécies de *Metarhizium* foi a mesma em todos os tratamentos e controles, sugerindo que os isolados não tiveram impacto na germinação das sementes no campo (Liao *et. al*, 2014).

No intervalo de 21 dias depois do plantio das gemas, observou-se uma diferença numérica nos dados da altura das plantas nos diferentes tratamentos, destacando-se o tratamento onde foi aplicado somente *Metarhizium* (T1) que tiveram a maior altura em relação às plantas inoculadas com *Fusarium* (T4) e foram três vezes superiores ao controle ao tratamento testemunha (T0) sem a adição do mesmo (Tabela 1). Resultados semelhantes foram verificados por Siqueira (2016), no estudo de promoção de crescimento, utilizando diferentes isolados de *Metarhizium spp.*

Cezar *et al.* (2022) verificaram que *Metarhizium anisopliae* quando aplicado no solo resultou em maior altura das plantas e maior espessura do colmo da cana-de-açúcar aos 21 dias após o plantio de gemas semelhante ao encontrado no presente estudo. Este efeito também foi verificado nas plantas inoculadas com *Fusarium* e tratadas com o fungo *Metarhizium* (T2) até os 42 dias, destacando-se seu efeito positivo no desenvolvimento inicial das plantas na presença do patógeno (Tabela 01). O incremento no crescimento das plantas tratadas apenas com *Metarhizium* (T1) se manteve ao longo de todo o período avaliado.

Tabela 1. Efeito de *Metarhizium* na altura de plantas de cana-de-açúcar em três períodos de avaliação

Tratamento	Altura da Planta (cm) e Período de avaliação (dias)		
	21	42	62
T0¹	5,74 ^a ± 2,61	50,30 ^a ± 13,14	82,50a ± 14,57
T1	15,78 ^{a2} ± 8,98 ³	69,14 ^a ± 17,17	92,00 ^a ± 11,80
T2	13,98 ^a ± 7,22	60,14 ^a ± 8,22	83,80 ^a ± 7,93
T3	7,36 ^a ± 4,21	58,46 ^a ± 14,87	87,60a ± 13,13

¹ Controle sem aplicação *Metarhizium* e *Fusarium* (T0); aplicação de *Metarhizium* (T1); aplicação de *Metarhizium* e *Fusarium* (T2); e aplicação de *Fusarium* (T3).

² Letras iguais ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente iguais. Letras diferentes ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente diferentes. Teste de Tukey (p<0,05).

³Médias e desvio padrão (n=5 repetições)

Aos 62 dias após o plantio das gemas, verificou-se que o uso de *Metarhizium* (T1) proporcionou a maior altura da planta (92,00 cm) quando comparado a testemunha (T0). Resultados semelhantes foram verificados por Siqueira (2016), no estudo de promoção de crescimento, utilizando diferentes isolados de *Metarhizium* spp. Diante de todos os benefícios promovidos pelo fungo *Metarhizium*, o crescimento da planta é o mais marcante observado e é esperada a expansão de seu uso no mercado de bio insumos, como verificado em um experimento com cultura de tomates que o tratamento utilizando *Metarhizium anisopliae* promoveu o maior desenvolvimento das raízes, o que trouxe uma série de benefícios para a planta (Embrapa, 2021).

A eficiência de microrganismos como promotores de crescimento no desenvolvimento inicial do milho em casa de vegetação foi verificada por Souto et al., (2020) que verificaram a maior média para o tratamento *Rhizovator*, com 18,05 cm. Já entre a testemunha, o tratamento *M. anisopliae* IBCB 425 e *M. anisopliae* IBCB 425 + *Rhizovator*, não se diferiram entre si.

Quanto à espessura, o tratamento onde aplicou o *Metarhizium* e o patógeno *Fusarium* (T2) obteve a maior espessura média das plantas até os 42 dias (Tabela 2). No presente trabalho, ao final dos 62 dias a variável espessura do colmo foi maior em plantas tratadas apenas com *Metarhizium* (T1).

Tabela 2. Efeito de *Metarhizium* na espessura do colmo de cana-de-açúcar em três períodos de avaliação.

Tratamento	Espessura do Colmo (mm) e Período de Avaliação (dias)		
	21	42	62
T0¹	3,20 ^a ± 1,92	4,60 ^a ± 1,14	7,10 ^a ± 1,14
T1	4,20 ^{a2} ± 2,49 ³	5,00 ^a ± 0,71	8,40 ^a ± 0,54
T2	5,20 ^a ± 1,30	6,00 ^a ± 0,71	8,10 ^a ± 0,65
T3	5,00 ^a ± 1,22	5,40 ^a ± 1,52	8,00 ^a ± 1,00

¹ Controle sem aplicação *Metarhizium* e *Fusarium* (T0); aplicação de *Metarhizium* (T1); aplicação de *Metarhizium* e *Fusarium* (T2); e aplicação de *Fusarium* (T3).

² Letras iguais ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente iguais. Letras diferentes ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente diferentes. Teste de Tukey (p<0,05).

³ Médias e desvio padrão (n=5 repetições)

Quanto ao número de folhas, não houveram diferenças estatísticas significativas, embora o resultado numérico da T2 foi maior em 62 dias (Tabela 3). Na pesquisa de promoção de crescimento inicial do milho com diferentes combinações de microrganismos, realizada em

casa de vegetação obteve-se a média de 3,2 folhas por planta não diferindo os tratamentos estatisticamente entre si (Souto et al., 2020).

De acordo com Santos Junior (2022), analisar o número de folhas se faz essencial para determinar tanto a evolução das plantas, quanto dos tratamentos, indicando crescimento e efetividade na distribuição dos fotoassimiladores.

Tabela 3 . Efeito de *Metarhizium* no número de folhas de cana-de-açúcar em três períodos de avaliação.

Tratamento	Número de folhas e Período de Avaliação (dias)		
	21	42	62
T0¹	1,20 ^a ± 0,84	4,80 ^a ± 0,84	7,00 ^a ± 0,00
T1	1,60 ^{a2} ± 1,14 ³	5,80 ^a ± 1,64	7,40 ^a ± 0,89
T2	2,20 ^a ± 0,84	6,40 ^a ± 0,89	8,20 ^a ± 0,45
T3	0,80 ^a ± 0,84	6,40 ^a ± 0,89	7,60 ^a ± 0,89

¹ Controle sem aplicação *Metarhizium* e *Fusarium* (T0); aplicação de *Metarhizium* (T1); aplicação de *Metarhizium* e *Fusarium* (T2); e aplicação de *Fusarium* (T3).

² Letras iguais ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente iguais. Letras diferentes ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente diferentes. Teste de Tukey (p<0,05).

³Médias e desvio padrão (n=5 repetições)

Na tabela 4 encontram-se os valores médios do peso fresco da raiz e parte aérea, peso seco da raiz e parte aérea e comprimento das raízes de plantas de cana-de-açúcar aos 62 dias após o plantio. A maior média de peso fresco das raízes foi observada no tratamento contendo *Metarhizium* e *Fusarium* (T2) quando comparada a testemunha sem adição de microrganismos, inclusive mostrando um alto desvio padrão. Esse efeito pode ter resultado da interação entre patógeno e o agente de biocontrole na rizosfera da planta, visto que ambos os microrganismos são habitantes do solo.

Tabela 4. Efeito de *Metarhizium* nos pesos fresco da raiz e parte aérea, pesos seco da raiz e parte aérea e comprimento das raízes de plantas de cana-de-açúcar aos 62 dias após o plantio.

Tratamento	PFR ¹ g	PFPA g	PSR g	PSPA g	CR cm
T0²	33,76a ³ ± 7,41 ⁴	19,40a ± 3,91	7,75a ± 2,20	5,40a ± 1,67	66,60a ± 14,99
T1	33,71a ± 11,15	21,20a ± 4,55	6,67a ± 3,27	7,80a ± 1,30	71,66a ± 15,2
T2	74,85a ± 66,49	18,60a ± 2,30	10,25a ± 9,51	6,20a ± 0,84	57,0a ± 6,2
T3	48,64a ± 18,42	19,8a ± 4,92	13,47a ± 5,70	7,40a ± 1,95	73,20a ± 12,91

¹ PFR: Peso Fresco das Raízes; PFPA: Peso Fresco da Parte Aérea; PSR: Peso Seco das Raízes; PSPA: Peso Seco da Parte Aérea e CR: Comprimento das Raízes

² Controle sem aplicação *Metarhizium* e *Fusarium* (T0); aplicação de *Metarhizium* (T1); aplicação de *Metarhizium* e *Fusarium* (T2); e aplicação de *Fusarium* (T3).

³ Letras iguais ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente iguais. Letras diferentes ao longo de uma coluna representam médias estatisticamente diferentes. Teste de Tukey ($p < 0,05$).

⁴ Médias e desvio padrão (n=5 repetições)

Souto et al., (2020) verificaram que os parâmetros massa seca da parte aérea e da raiz, não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos *M. anisopliae* IBCB 425+ *Rhizovator* e *Bacstim*, obtendo-se as segundas melhores médias e para a testemunha e o tratamento *M. anisopliae* também não houveram diferenças estatísticas entre eles. Os autores verificaram que para o parâmetro peso de massa fresca da raiz, houve diferença estatística significativa entre todos os tratamentos, onde obteve-se uma média geral de 11,1 g por planta.

A aplicação de *Metarhizium* (T1) proporcionou os maiores valores de pesos frescos e secos da parte aérea das plantas (Tabela 4). Rabuske (2021) avaliou o efeito da aplicação do fungo antagonista de *Trichoderma*, no controle biológico de *Lasiodiplodia theobromae*, e no crescimento das mudas de nogueira-pecã e verificou para a massa fresca da parte aérea não houve diferença estatística entre os tratamentos avaliados, porém numericamente, as plantas apresentaram maior massa para o tratamento sem a inoculação do patógeno.

As plantas submetidas à inoculação com o patógeno (T3), seguido do tratamento com apenas a aplicação de *Metarhizium* no solo (T1) tiveram os maiores comprimentos das raízes (Tabela 4). Segundo Rivas-Franco et al., (2020), nem todos os isolados de fungos entomopatogênicos têm a mesma capacidade de controlar doenças de plantas e pragas de insetos ou promover o crescimento das plantas. Dessa forma estudos que envolvam a caracterização de isolados e espécies de fungos entomopatogênicos, são necessários.

6. CONCLUSÕES

- As avaliações do efeito do agente de biocontrole permitiram identificar que plantas tratadas com *Metarhizium* (T1) tiveram a maior altura em relação às plantas inoculadas com *Fusarium* (T4).
- Plantas tratadas com *Metarhizium* e *Fusarium* (T2) tiveram a maior espessura até os 42 dias, além de maior número de folhas, e maior média de peso fresco das raízes.
- A aplicação de *Metarhizium* (T1) resultou em maiores pesos frescos e secos da parte aérea das plantas.

7. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO DE PLANTADORES DE CANA DA PARAÍBA – ASPLAN. Técnicas agrícolas sustentáveis para o cultivo da cana-de-açúcar. (Manual de Orientação). João Pessoa, PB, 2014

CANAVIEIRA - CTC. Pragas e doenças da cana-de-açúcar. 2018. Disponível em: < <https://ctc.com.br/produtos/wpcontent/uploads/2018/07/Caderneta-de-Pragas-e-Doenças-da-Cana-de-açúcar-CTC.pdf> >. Acesso em: 17 junho de 2023.

CARVALHO – GONÇALVES, L. C. T et al. Introdução à Tecnologia Sucroalcooleira, João Pessoa, PB: Editora UFPB. 2021

CEZAR, M. A.; CUNHA, L. M. M.; SILVA, R. B. Efeito de *Metarhizium anisopliae* em plântulas de cana-de-açúcar e inoculadas com *Fusarium* sp. CINASAMA 2022. Congresso Internacional de Saúde e Meio Ambiente. III Edição ON-line. 12 a 13/11/2022.

EMBRAPA. Pesquisadores identificam fungos que estimulam o crescimento do tomate, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/59649663/pesquisadores-identificam-fungos-que-estimulam-o-crescimento-de-tomate> . Acesso em 28 agosto de 2023.

LIAO, X. G, O'BRIEN, T. R, FANG, W. G. S. T., LEGER, R.J. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Berlim, v. 98, p.7089–7096, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-014-5788-2>. Acesso em 04 ago. 2023.

LOPES, L. N. da S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. de O.; MENEZES, I. P. P. de; MALAFAIA, G.; PAZ-LIMA, M. L. da. Sensibilidade de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a Fungicidas. *Multi-Science Journal*, Urutaí, v. 1, n. 1, p. 106–114, 2018. Disponível em: <https://periodicos.ifgoiano.edu.br/multiscience/article/view/46>. Acesso em: 10 abr. 2024.

Keyser, C. a.; THoruP-KrisTensen, K.; MeylinG, n.V. *Metarhizium* seed treatment mediates fungal dispersal. *FungalEcology*, l ondon, v. 11, p. 122-133, 2014.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Agrofit, Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em 20 abril de 2024.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA/EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. Plano decenal de expansão de energia 2026 Plano decenal de expansão de energia 2026.: MME/EPE, 2017. Disponível em: www.epe.gov.br. Acesso em: 02 abr. 2024.

MORAES, W. B. Avanços e desafios no controle químico de doenças. *Revista Opiniões*. Ribeirão Preto, n.61, p.56-58,2020. Disponível em: <https://florestal.revistaopinioes.com.br/pt-br/revista/detalhes/14-avancos-e-desafios-no-controle-quimico-de-doenca>. Acesso em: mar de 2023.

NANUCI Ricardo L. Aplicação de fungicidas multissítiose em mistura e de forma isolada no manejo da resistência de *phakopsora pachyrhizi* na soja. 2020. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) -Instituto Federal Goiano, Urutaí, GO, 03 set 2020. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/1362>. Acesso em: 10 abr. 2024.

NOVACANA. Usinas da Paraíba aumentam produção de etanol em 10% em 2022/23, [s. l.], 21 abr. 2022. Disponível em: <https://www.novacana.com/noticias/usinas-paraiba-aumentam-producao-etanol-10-2022-23-201022>. Acesso em: 05 abr. 2024.

OLIVEIRA, OZÂNIA F. Efeito de *metarhizium anisopliae* sobre *fusarium* spp. em cana-de-açúcar. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Produção Sucroalcooleira) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.

OLIVEIRA, O. F.; SILVA, R. B.; PONTIERI, M. H.; CEZAR, M. A. Antagonismo “in vitro” de *Metarhizium anisopliae* ao fitopatógeno *Fusarium* spp. Em cana-de-açúcar. In.: Congresso Internacional da Diversidade do Semiárido. Anais do II Congresso Internacional da Diversidade do Semiárido. Campina Grande, v. 1. 2017.

PICARDAL, J. P.; TUNDAG, E. D. L.; PICARDAL, M. T.; GOC-ONG, G. B. Antagonistic activity of *metarhizium anisopliae* (metschnikoff) against phytopathogenic *fusarium oxysporum* f. Sp. Cubense (schlecht.) As a biological control. CNU Journal of Higher Education V.13, p 25-33, 2019.

RABUSKE, Jessica E. Trichoderma asperellum no manejo de doenças e na promoção de crescimento de plantas de noqueira-pecã. 2021. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 24 mai 2021. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/23686/TES_PPGEF_2021_RABUSKE_J%c3%89SSICA.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 11 dez.2023.

RIVAS-FRANCO, F.; B; HAMPTON, J. G.; NARCISO, J.; ROSTÁS, M.; WESSMAN, P.; SAVILLE, D. J.; JACKSON, T. A.; GLARE, T. A. Biological Control. V.150, 2020, Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964420302152>. Acesso em Abr de 2024.

SANTIAGO, A. D.; ROSSETTO, R. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar>>. Acesso em: 16 junho de 2023.

SANTOS JÚNIOR, Amarildo M. Microrganismos eficientes como biofertilizante na cultura da alface. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 09 jun 2022. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/29048/1/microrganismoseficientesbiofertilizantealface.pdf>. Acesso em: 11 dez 2023.

SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. Antagonismo f the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. Canadian Journal of Plant Pathology, Ottawa, v.35, n. 3, p. 288-293, 2013

SILVA, F. C.; ANTONIOLLI, A.; FREITAS, P. L. Avaliação da produtividade agrícola da cana-planta e cana-soca sob diferentes espaçamentos entre plantas para produção de açúcar e etanol - Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2015. 86 p.: il. - (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Informática Agropecuária, ISSN 1677-9266; 40)

SIQUEIRA, A. C. O. Uso de *Metarhizium* spp. na produção de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar e seus efeitos na planta, em pragas e doenças. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SOUTO, A.C.; Beloni, G.D.; Azevedo, V.H.; Moraes, C.A.; Campos, D.T.S. Desenvolvimento inicial do milho com uso de microrganismos. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.17 n.32; p. 277 2020. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/36> Acesso em 30 de agosto de 2023.

STATSOFT, Statistica [software]. Versão 5.0. Tulsa: Statsoft, 1995.

TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da cana-de-açúcar (híbridos *Saccharum* spp.) In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. Manual de Fitopatologia, doenças das plantas cultivadas, São Paulo, Ceres 2005.