



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

SELEÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS COM EFEITO OVICIDA E NEMATICIDA SOBRE *Meloidogyne javanica* VISANDO O BIOCONTROLE DO NEMATOIDE EM CANA-DE- AÇÚCAR.

Maria I. Diel¹; Aline V. Fiss.²; Victor H. Casa-Coila³; Israel Lima-Medina⁴; Cristiano Bellé⁵; César B. Gomes⁶

INTRODUÇÃO

Vários são os patógenos que interferem no ciclo de produção da cana-de-açúcar, entre eles, pode-se citar o ataque de nematoides fitopatogênicos. Entre esses, os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são de grande importância por causarem danos severos à cultura, sendo *Meloidogyne javanica*, uma das espécies mais frequentes em diferentes regiões do Brasil (BARBOSA, 2008; BELLÉ, 2014). Os sintomas geralmente se manifestam em reboleiras, onde as plantas apresentam-se cloróticas e com porte reduzido. Esses sintomas frequentemente são associados ao ataque desses patógenos às raízes, provocam danos às plantas, e, mais especificamente, no caso do gênero *Meloidogyne*, causando a formação de galhas no sistema radicular (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Entre as estratégias de manejo de fitonematoides, o controle químico pelo uso de nematicidas, constitui-se como uma das principais formas de controle, uma vez que existem poucas variedades resistentes/tolerantes disponíveis no mercado. No entanto, os custos de aplicação destes produtos são altos e há sérios riscos ambientais relacionados ao seu uso (VAZ & LOPES, 2011). O manejo de fitonematoides pelo uso de microrganismos antagonistas vem despertando a atenção de pesquisadores de empresas nacionais e multinacionais nas mais diferentes partes do globo pela possibilidade de uso como bionematicida natural com menor impacto ambiental aos agrossistemas

¹Estudante do curso de Graduação em Agronomia, UFFS. E-mail: mariaines.diel@hotmail.com;

²Bióloga, Especialização em Gestão Ambiental, Faculdades Anhanguera-Pelotas, Bolsista projeto Xisto Agrícola. E-mail: alinefiss@hotmail.com;

³Eng. Agrônomo, Doutor, Bolsista SICANA/Funarb. E-mail: torcasa7@yahoo.com.br;

⁴Eng. Agrônomo, Doutor, Bolsista Projeto Xisto Agrícola/FAPEG, Embrapa Clima Temperado. E-mail: islimes@hotmail.com;

⁵Eng. Agrônomo, Doutorando do PPGFs/UFPel. E-mail: crbelle@gmail.com;

⁶Eng. Agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Clima Temperado. E-mail: cesar.gomes@embrapa.br.



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

agrícolas. Dessa forma, foi objetivo do presente estudo, avaliar o efeito ovicida e nematicida *in vitro* de rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e duas rizobactérias, isoladas de folhelhos pirobetuminosos e pré-selecionadas para o biocontrole de *M. graminicola* em arroz irrigado, foram avaliadas em laboratório quanto ao potencial ovicida e nematicida sobre *M. javanica* em experimento inteiramente ao acaso com quatro repetições. O inóculo de *M. javanica* foi obtido a partir de uma população pura proveniente de plantas de cana-de-açúcar. Os ovos foram extraídos de raízes infectadas conforme Hussey & Baker (1973); sendo parte da suspensão, incubada em funil de Baermann modificado (BAERMANN, 1917) a 25 °C por 48 horas para obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2) do nematoide. As bactérias utilizadas foram cultivadas em meio Kado 523 a 28°C por 24 h, para posteriormente serem obtidas as diferentes suspensões em solução salina, ajustadas em espectrofotômetro ($A_{540}=0,5$).

Para avaliação da eclosão dos J2, em uma cavidade (repetição) de uma placa de microtitulação, foram adicionados 50µL de água destilada esterilizada (ADE) contendo 30 ovos de *M. javanica* e 50µL de suspensão de cada bactéria, separadamente. Como testemunha, foram utilizadas cavidades da placa contendo 30 ovos em 50µL de suspensão de ADE e 50µL de solução salina. A seguir, as placas foram incubadas a 26°C, e, decorridos 12 dias, avaliou-se, sob microscópio óptico, o número de J2 eclodidos, calculando-se as respectivas percentagens.

A metodologia para avaliação da mortalidade e da motilidade dos J2 foi similar à da eclosão, no entanto, foram utilizados 30 J2 do nematoide/cavidade ao invés de ovos. Após 24 horas da incubação, nas mesmas condições do bioteste anterior, primeiramente avaliou-se a motilidade dos J2 de *M. javanica* observando-se o número e percentagem de nematoides imóveis. A seguir, adicionou-se de 10 µL de NaOH 1N em cada cavidade (CHEN & DICKSON, 2000), e, após 10", avaliou-se o número e percentagem de J2 imóveis (mortalidade). A seguir, os dados das diferentes variáveis (arc sen raiz de $x/1000$), foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos, comparadas entre si pelo teste de agrupamento de Scott & Knott a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 32 isolados bacterianos avaliados quanto a motilidade dos J2, apenas nove reduziram significativamente a movimentação dos nematoides. Já para a variável mortalidade, um



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

maior número de isolados (n=14) apresentou efeito nematicida sobre os J2 de *M. javanica* em relação à testemunha ($P < 0,05$), onde dois deles resultaram em valores superiores a 70% (76,65-84,15%). Na avaliação da eclosão, um maior número de isolados (n=21) apresentaram efeito ovicida sobre *M. javanica*, resultando em percentagens de inibição de eclosão que variaram entre 34 e 60% em relação à testemunha.

Alguns isolados testados neste trabalho, demonstraram efeito nematicida *in vitro* sobre J2 de *M. hapla* em outro trabalho (DIEL et al., 2014), no entanto, alguns não foram efetivos em relação a variável analisada o que ressalta a necessidade de biotestes para avaliação da especificidade dos isolados, levando-se em consideração seu espectro de ação como um agente de biocontrole.

Da mesma forma, Ludwig et al. (2013) avaliando o potencial de rizobactérias no biocontrole de *M. graminicola*, verificaram que alguns isolados inibiram a eclosão e apresentaram elevado efeito nematicida sobre J2 do nematoide, e, ainda, produziram pelo menos um composto associado ao biocontrole de fitonematoides. Em trabalho realizado por Correa et al. (2012) avaliando o efeito de tratamentos bacterianos sobre a motilidade dos J2 de *M. incognita*, os autores verificaram que todos os tratamentos reduziram significativamente a porcentagem de J2 móveis e de eclosão de J2 de *M. incognita*. Nesses dois trabalhos verificou-se que 25% e 30% dos isolados eficientes, respectivamente, quando testados *in vitro*, resultaram em biocontrole *in vivo*, validando a realização desses estudos na seleção de agentes para o biocontrole de fitonematoides em importantes culturas associadas a fontes de energia renováveis como a cana-de-açúcar.

CONCLUSÕES

Existem isolados de rizobactérias com efeito nematicida e ovicida sobre *M. javanica*, constituindo-se como agentes potenciais no biocontrole do nematoide das galhas.

REFERÊNCIAS

BAERMANN, G. Eine einfache Methode Zur Auffindung von Ankvlostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. **Tijdschr. Ned.-Indië**, v. 57, p. 131-137, 1917.

BARBOSA, B. F. F. **Estudo das inter-relações patógeno-hospedeiro de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schuurmans Stekhoven em cana-de-açúcar**. 2008. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual





simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2008.

BELLÉ, C. **Fitonematoides na cultura da cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul: Levantamento, caracterização e reação de genótipos a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus zaeae***. 2014. 109 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente) - Universidade Federal de Santa Maria. 2014

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, p. 117–121, 2000.

CORREA, Bianca Obes.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B.; SOMAVILLA, Lúcia; ROCHA, D. J. A.; ANTUNES, Irajá Ferreira. Potencial da microbiolização de sementes de feijão com rizobactérias para o controle do nematoide das galhas. **Nematropica**, v. 42, p. 343-350, 2012.

DIEL, M. I.; FISS, A. V.; LIMA-MEDINA, I.; GOMES, C. B. Efeito nematicida e nematostático *in vitro* de rizobactérias sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne hapla*. **V Encontro de Iniciação científica e Pós Graduação da Embrapa Clima Temperado**. Pelotas, 2014.

DINARDO-MIRANDA. L. L. Manejo de nematóides em cana-de-açúcar. **JornalCana**, v. 141, p. 64-69, 2005.

HUSSEY R.S., BAKER K.R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* species, including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology** (Impresso), v. 38, p. 264-268, 2013.

VAZ, M. V.; LOPES, E. A. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incógnita* com *Bacillus subtilis*. Patos de Minas: UNIPAM, **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão**, v. 1, n. 8, pp. 203-212. 2011.