

Efeito promotor de crescimento e biocontrolador do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* sp. 0) por rizobactérias em plantas de azevém.

JOÃO GABRIEL SCHWANZ GÖEBEL¹; CIELO PAMELA MACHADO-CALSIN²;
GUILHERME MENDES MANSKE³; CESAR BAUER GOMES⁴

¹Bolsista CNPq IC FAEM/UFPEL – joao.goebel@gmail.com

²PPGFS, Faem/UFPEL, – machacacalsinpamela@gmail.com

³BCB/URI Campus Santo Ângelo, RS – guimanske@gmail.com

⁴Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS – cbauergr@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O azevém (*Lolium multiflorum*) é uma gramínea de inverno de ciclo anual que destaca-se por ser uma cultura de elevado valor forrageiro, possuindo desenvolvimento rápido aliado ao grande potencial para produção de massa verde e a sua tolerância a solos hidromórficos e rasos (RODRIGUES, *et al.*, 2017). Introduzida no Rio Grande do Sul como forrageira de inverno, é a segunda mais cultivada do estado (RIBEIRO FILHO *et al.*, 2007); sendo muito utilizada nas áreas de terras baixas no período de entressafas. Dessa forma, viabiliza a integração arroz-pecuária (SOSBAI, 2019) e o sistema de semeadura direta e cultivo mínimo.

No Rio Grande do Sul, a produção total de arroz irrigado na safra 2018/19 foi de 7.241.458 toneladas, destinando um total de área de 984.878 há (IRGA, 2019), Contudo, o nível de produção considerado para a cultura ainda não foi alcançado devido a interferência de plantas daninhas e ataque de pragas e patógenos (NEGRETTI, *et al.*, 2014). Entre as pragas que afetam arroz irrigado destacam-se os fitonematoides os quais são capazes de infectar o sistema radicular e afetar negativamente o desenvolvimento da planta, e por consequência levar ao menor rendimento da cultura (KARSSSEN, *et al.*, 2006).

Meloidogyne graminicola é considerado a espécie com maior potencial de dano ao arroz, causando perdas entre 11% e 80% (PADGHAM, *et al.*, 2004). No entanto, recentemente, verificou-se que nas regiões orizícolas do sul do Brasil, um complexo de espécies do nematoide das galhas n na cultura, incluindo *M. graminicola* (mais frequente), *M. oryzae*, *M. javanica* e mais três populações atípicas ainda não identificadas (*Meloidogyne* sp. 0, 2 e 3) (Mattos *et al.*, 2017). Esses nematoides podem sobreviver e se reproduzirem no período entressafra em plantas daninhas ou forrageiras, como é o caso de *M. graminicola* e *Meloidogyne* sp.0 os quais são capazes de se desenvolverem em azevém (NEGRETTI *et al.*, 2014) aumentando o seu inoculo no solo.

Alguns trabalhos retratam a capacidade de algumas rizobactérias promoverem o crescimento de plantas de arroz e suprimirem as populações de *M. graminicola* na mesma cultura (SOUZA-JUNIOR *et al.*, 2010; BRUM, 2017); no entanto, pouco se sabe sobre o papel dessas bactérias no patossistema azevém x *Meloidogyne* spp. As rizobactérias encontram-se na região da rizosfera das plantas onde podem estabelecer uma relação não benéfica com as raízes, podendo promover o crescimento vegetal e o biocntrole de fitonematoides (KLOEPPER *et al.* 1980). Levando-se em consideração o exposto, teve-se por objetivo nesse trabalho, avaliar o efeito de rizobacterias na promoção de crescimento de plantas de azevém 'BRS Ponteio' e na redução de danos causados *Meloidogyne* sp. 0.

2. METODOLOGIA

A partir de 38 isolados de rizobactérias provenientes da coleção da Embrapa Clima Temperado, e, previamente selecionados quanto à promoção de crescimento de plantas de arroz e/ou biocontrole de *M. graminicola* (BRUM, 2017), procedeu-se a avaliação do seu potencial quanto à colonização de raízes de azevém 'BRS Ponteio' 'in vitro' conforme escala de Habe e Uesugi (2000). Logo após, os valores foram submetidos ao teste de agrupamento de Scott & Knott, selecionando-se os isolados com maior índice de colonização radicular para os testes in vivo.

A seguir, conduziu-se um experimento com os isolados selecionados em casa-de-vegetação e no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS. Para tanto foram utilizadas sementes de azevém da mesma cultivar. Primeiramente, as sementes foram previamente submetidas à desinfestação superficial com solução de hipoclorito de sódio a 1%, por 5 minutos, seguida de tríplex lavagem com água destilada. Posteriormente, as sementes de azevém foram tratadas com a suspensão bacteriana de cada isolado, permanecendo imersas por 30 minutos sob agitação contínua. Para o preparo das suspensões bacterianas, cada isolado foi suspenso em solução salina (NaCl 0,85%) a partir de culturas com 48h de crescimento em meio sólido 523 (KADO, 1970) a 28°C. A concentração da suspensão de cada rizobactéria foi ajustada em espectrofotômetro para $A_{540}=0,5$.

Imediatamente após a microbiolização, procedeu-se a semeadura, conforme os diferentes tratamentos, em vasos plásticos de 3kg de solo natural. Decorridos, 10 dias da emergência, procedeu-se o desbaste deixando-se uma planta por vaso, onde cada planta foi inoculada com uma população pura de *Meloidogyne* sp. 0 (Est R0). Adicionalmente, testou-se o produto comercial Quartzo base de *Bacillus*, conforme recomendação. Como testemunhas, foram utilizadas plantas de azevém inoculadas com o nematoide e não microbiolizadas. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 6 repetições por tratamento. Decorridos 60 dias da inoculação, as plantas foram avaliadas quanto ao índice de clorofila e número de perfilhos. Em seguida, as plantas foram retiradas e avaliadas quanto a massa fresca da parte aérea e das raízes. Logo após as raízes de cada planta foram avaliadas quanto ao diâmetro médio (cinco raízes por planta) e número de galhas associadas ao nematoide das galhas. Por fim, os valores das diferentes variáveis foram submetidos a ANOVA, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, são apresentados os resultados referentes aos 13 isolados com maior índice de colonização das raízes *in vivo*; e, à massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca da parte radicular (MFR), diâmetro da raiz, número de perfilho e número de galhas/sistema radicular no experimento de casa de vegetação.

A microbiolização das sementes com os isolados XT52 e XT23 proporcionaram aumento da MFPA, e, XT11, XT33, XT36 e XT40 incrementaram a MFR comparativamente a testemunha ($P < 0,05$). No entanto, não houve efeito dos tratamentos sobre o conteúdo de clorofila foliar. Entre os isolados que promoveram aumento da massa da parte aérea, apenas XT 52 resultou no incremento do calibre das raízes e aumento do número de perfilhos por planta. Já para os isolados que promoveram maior desenvolvimento do sistema radicular, XT33, XT36 e XT40 também promoveram aumento do diâmetro das raízes muito embora em outros tratamentos bacterianos tenha sido observado aumento da referida variável isoladamente. Em relação ao número de perfilhos/planta, não foi

observado efeito significativo do tramanto das sementes com os isolados, XT21, XT23, XT33, XT36, XT 40 e XT52, em relação a testemunha; porém, a microbiolização com os demais isolados afetou neativamente tal parametro.

Tabela 1. Índice de colonização radicular e promoção de crescimento e biocontrole do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* sp. 0) em plantas de azevém oriundas de sementes microbiolizadas com diferentes isolados bacterianos. (incluir uma coluna na tabela)

Tratamento	MFPA (g)	MPR (g)	Diâmetro raízes(MM)	Nº de perfilhos	Nº de galhas*	Clorofila	ICR
XT02	26,05 B	10,12 B	0,55 B	13,67 B	36,00 B	35,78 A	2,86
XT11	28,16 B	15,59 A	0,60 A	16,00 B	33,33 B	34,87 A	3,00
XT21	24,58 B	12,92 B	0,56 B	19,50 A	50,83 A	36,46 A	2,86
XT23	31,71 A	14,35 B	0,59 B	19,17 A	52,67 A	32,42 A	3,00
XT27	25,93 B	13,49 B	0,63 A	15,67 B	42,17 A	36,40 A	3,00
XT33	26,93 B	17,84 A	0,64 A	18,17 A	55,83 A	37,68 A	3,00
XT36	28,08 B	19,59 A	0,66 A	17,83 A	41,17 A	37,69 A	3,00
XT40	26,85 B	17,53 A	0,62 A	21,50 A	25,67 B	36,76 A	3,00
XT52	37,18 A	12,13 B	0,60 A	34,33 A	28,83 B	34,59 A	2,86
XT55	27,66 B	13,03 B	0,62 A	14,67 B	26,83 B	36,60 A	3,00
XT66	27,41 B	9,69 B	0,61 A	14,00 B	29,33 B	36,86 A	3,00
XT71	27,67 B	13,41 B	0,60 A	15,33 B	21,00 B	37,98 A	3,00
Test. S/bac.	25,05 B	12,16 B	0,57 B	19,50 A	39,83 A	33,52 A	-
Quartzo	19,78 B	12,25 B	0,62 A	17,83 A	23,67 B	34,76 A	-
CV (%)	22,21	25,02	8,32	28,1	49,58	11,64	14,62

**Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ** Valores originais transformados em raiz x +1;MFP. Matéria fresca radicular, MFPA: massa fresca parte radicular, ICR: índice de colonização

Aumentos na massa da fresca da parte aérea edas raízes e do diâmetro das raízes foram em media da ordem de 25,25%, 31,96% e 10%, respectivamente nos tratamentos bacterianos quando comparado a testemunha. De acordo com Katznelson, (1962).esse aumento do diâmetro das raízes pode ser explicadoo pela interação das bacterias, onde as mesmas produzem hormonio de crescimento com giberelinas e auxinas alemde outros compostos favorecendo o desenvolvimento das plantas.

A redução dos danos causados pelo nematoide-das-galhas nas plantas de azevém foi observada nos tratamentos XT02, XT11, XT66, XT52, XT55, XT40, XT71 e com o Quartzo; proporcionando uma redução media de 28,45% no número de galhas nas raízes. Porém, apenas com XT52 e XT40, verificou-se incremento no desenvolvimetro das plantas. Dessa maneira, as rizobacterias podem suprimir os microorganismos deletérios da rizosfera da planta, (KLOEPFER & SCHROTH, 1981). Através de seus mecanismos de ações, quer seja impedindo a penetração dos juvenis, retardando o desenvolvimento do nematoide ou ainda diminuindo a produção de ocos peltas fêmeas .

No presente estudo, o biocontrole foi relacionado com os menores valores de número de galhas no sistema radicular das plantas, uma vez que não foi possivel estimar o número de nenamoides por planta em função do período em que foi conduzido o ensaio (maio-julho) onde as temperaturas inferiores a 25°C afetaram negativamente o ciclo do patógeno retardando o seu desenvolvimento. Nesse sentido, a condução de estudos adicionais avalaindo-se as populações do nematoide mais tardiamente darão subsídios para afeirir o real nivel de supressão considerando-se a população final de nematoides; e, como tal fato poderia

interferir no manejo considerando-se o sistema de produção de várzea onde o arroz é a cultura chave.

4. CONCLUSÃO

Existem isolados bacterianos capazes de promoverem crescimento de plantas de azevém e reduzirem os danos causados por *Meloidogyne sp.* 0 em arroz irrigado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUM, D., *et al.* **Fitonematoides nas culturas do arroz irrigado e do morangueiro: biocontrole, promoção de crescimento, agressividade de populações e reação de cultura.** 2017. Dissertação (mestrado), Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.
- HABE, M.H.; UESUGI, C.H. Método *in vitro* para avaliar a capacidade colonizadora de bactérias em raízes de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n.4, p. 657-660, 2000.
- IRGA, **Boletim de resultados da lavoura-safra 2018/19**, IRGA, porto alegre, 31 de agosto de 2019. <https://irga-admin.rs.gov.br/upload/arquivos/201909/05171808-relatorio-da-safra-2018-19-31-agosto-2019.pdf>.
- KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas and Xanthomonas. **Phytopathology**, v.60, p.969-976, 1970.
- KATZNELSON, H.; COLE, S.F.. Production of a gibberellin-like substance by *Arthrobacter globiformis*. **Nature**, v.196, p.1012-1012. 1962.
- KLOPPER, J.W.; LEONG, J.; TEINZ, M.; SCHROTH, M.N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. **Nature**, v. 286, p.885-886, 1980.
- KLOPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, v. 71, p.612-644, 1981.
- MATTO, V. D. S., *et al.* **caracterização de um complex de especies do nematoide das galhas parasitando arroz irrigado na região sul do Brasil.** Embrapa, Boletim de pesquisa e desenvolvimento 331, p.1-30, dez, 2017
- NEGRETTI, R. R. D. *et al.* Host suitability of weeds and forage species to root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* as a function of irrigation management. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 555-561, 2014.
- PADGHAM, J. L. *et al.* Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **J. Nematol.**, v. 36, n. 1, p. 42-48, 2004.
- RIBEIRO FILHO, H. M. N.R. *et al.*; Suplementação energética para vacas leiteiras pastando com azevém com alta oferta de forragem. **Revista Brasileira Zootecnia**, viçosa, v. 36, n 6, p. 2152-2158, 2007.
- RODRIGUES, S. N. *et al.* **Morfologia de cultivares diploide e tetraploide de azevém em diferentes condições hídricas do solo.** 2017. Dissertação (mestrado em agrobiologia), curso de pós-graduação em agrobiologia, Universidade Federal de Pelotas.
- SOSBAI, RTDCDAI. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. **XXXII REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO**, Farroupilha 2018, Cachoeirinha: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, 2018.
- SOUZA JÚNIOR, Ismail Teodoro de *et al.* Biocontrol of sheath blight and root-knot nematode and growth promotion of rice plants by rhizobacteria. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 11, p. 1259-1267, 2010.