

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

COMPATIBILIDADE ENTRE ISOLADOS BACTERIANOS PRESENTES NO VITAFLEX E NO MAXFERT

**Rayla Vieira Frangilo, Milena Barbosa Parreira da Silva, Íris Petronília Dutra,
Bianca Callegari Freitas, Sâmela Cansi Gomes, Dimmy Herllen Silveira Gomes
Barbosa, Fábio Ramos Alves.**

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitario, S/N – Guararema - 29500-000 - Alegre-
ES, Brasil, raylavieira1997@gmail.com, milenabarbosa1504@gmail.com, iris.dutra@edu.ufes.br,
bianca.callegarifreitas@outlook.com, samelacasin@hotmail.com, dimmy.barbosa@agricultura.gov.br,
fabio.alves@ufes.br.

Resumo

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* estão entre os que mais limitam a produção agrícola. Uma vez introduzido na área, não há como erradicar esses patógenos, sendo necessária a utilização de medidas integradas que reduzam a sua população a níveis que possibilitem a convivência entre o patógeno e a cultura. Uma alternativa viável para o manejo integrado de *Meloidogyne* spp. é o uso de biofertilizantes como o Vitaflex e Maxfert. Alguns isolados bacterianos obtidos a partir desses biofertilizantes apresentam ação nematicida, porém não se sabe que tipo de interação há entre essas bactérias. Objetivou-se no presente trabalho avaliar o tipo de interação (antagônica ou neutra) existente entre isolados bacterianos obtidos a partir do Vitaflex e no Maxfert. O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 7 tratamentos (isolados bacterianos, quais sejam, B74, B75, B84, B85, B86, B88 e B121) e quatro repetições. Uma placa de Petri foi considerada uma repetição. Todas as combinações testadas apresentaram efeito neutro o que indica a possibilidade de uso conjunto dessas bactérias no manejo de fitonemátodes.

Palavras-chave: Interação. Bactérias. Fitonemátodes. Manejo.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma

Introdução

Entre os nematoides parasitas de plantas os do gênero *Meloidogyne*, ou nematoides das galhas estão entre os mais importantes. Esses fitopatógenos atacam as raízes de plantas causando aumento no número e tamanho das células, cujo sintoma típico é a formação de galhas nas raízes (NEVES et al., 2021).

Em virtude de sua considerável importância econômica, esses patógenos têm sido objeto de extensas pesquisas incluindo estratégias sustentáveis de manejo (MOENS et al., 2009), sendo uma das possibilidades a aplicação de biofertilizantes, como o Vitaflex e o Maxfert (CÔGO, 2020).

Esses biofertilizantes são produtos biológicos obtidos a partir fermentação do melaço da cana por microrganismos benéficos, que produzem ácidos fúlvicos, aminoácidos, vitaminas, antibióticos, enzimas e substâncias antagônicas (fitoalexinas) (AGROHUMUS, 2019). Já foi observado que ambos produtos aplicados isoladamente ou de forma combinada com outros produtos proporcionam redução da população de *M. exigua* em café arábica em condições de campo (CÔGO, 2020).

A maioria das formulações comerciais são representadas por uma única cepa bacteriana, sendo os principais alvos desses produtos os nematoides das galhas e dos cistos. Os produtos comerciais disponíveis no mercado à base de *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Serratia* são mais promissores, pois estimulam o crescimento das plantas e têm ação sobre os nematoides.

Os microrganismos antagonistas de fitonemátodes presentes em biofertilizantes podem interagir entre si, gerando os seguintes tipos de interações: i) neutra, quando um microrganismo não potencializa a ação do outro; ii) antagônica, quando um microrganismo afeta o outro ou iii) sinérgica, quando um microrganismo potencializa a ação do outro (Back et al., 2002). É importante destacar que há escassez de estudos sobre o tipo de interação entre as bactérias presentes nos biofertilizantes disponíveis no mercado brasileiro.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

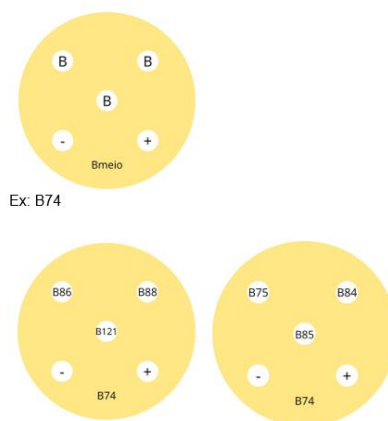
Por isso, objetivou-se com esse trabalho avaliar o tipo de interação (antagônica ou neutra) existente entre alguns isolados bacterianos presentes no Maxfert e Vitaflex

Metodologia

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 7 tratamentos (isolados bacterianos, quais sejam: B74, B75, B84, B85, B86, B88 e B121) e quatro repetições. Cada placa de Petri foi considerada uma repetição.

Para caracterização do tipo de interação entre isolados bacterianos (neutra, antagônica) foi empregada a técnica de poço, na qual os isolados foram avaliados através do método de pareamento de culturas em placas de Petri. Cada placa contou com 5 poços onde foi adicionado o controle positivo (hipoclorito de sódio 2,5%), controle negativo (testemunha) + 3 bactérias, conforme ilustrado na figura 1.

Figura 1 - Modelo de posicionamento de poços em placas de Petri contendo meio ágar nutriente (AN) para caracterização da interação neutra ou antagônica entre isolados bacterianos (B86, B88, B121, B74, B75, B84 e B85) obtidos a partir de dois biofertilizantes comerciais. *testemunha positiva; *testemunha negativa.



Fonte: Autores

Para a reativação dessas culturas bacterianas, previamente isoladas e preservadas em glicerol 15% à -20 °C, foi utilizada a técnica de semeadura por espalhamento (MARIANO e SOUZA, 2016). Para isso foram realizadas repicagens simples, pipetando 150 µL das suspensões em placas Petri contendo meio de cultura ágar nutriente e incubadas por 24-36 horas a 28°C em incubadora de crescimento bacteriano.

Após crescimento das colônias, estas foram cultivadas em 10 mL de meio caldo nutriente (NB) contidos em tubos de Falcon de 50 mL, a 28 °C os quais foram mantidos em agitador alternativo (180 rpm) por 52 horas de incubação (isolados a serem filtrados).

Para realização dos testes, os isolados a serem incorporados em meio fundente foram cultivados por 36 horas. Após esse período, as culturas bacterianas a serem adicionados nos poços foram centrifugadas a 6.000 rpm por 20 min e a solução sobrenadante foi despejada em placas de petri esterilizadas e filtradas em membranas PVDF de 0,45 µm de diâmetro, para eliminação das células bacterianas remanescentes e obtenção apenas dos metabólitos secundários.

Após cultivo bacteriano, uma alíquota (1 mL) de cada isolado foi incorporada em meio fundente AN com temperatura variando entre 53-55 °C e, em seguida, o meio foi vertido em placas de Petri.

Após solidificar, 5 poços (4 mm de profundidade x 6 mm de diâmetro) foram confeccionados de forma equidistante em cada placa com o auxílio de um furador de metal. Em cada um desses poços foi adicionado o filtrado de sobrenadante de uma bactéria, de forma que cada isolado bacteriano foi confrontado com 3 outros isolados, para avaliação do efeito destes quanto a presença de halo (antagonismo) ou não (efeito neutro).

As combinações utilizadas entre os isolados bacterianos a serem testados foram feitas conforme ilustrado na tabela 1.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Tabela 1: Combinações utilizadas para caracterização da interação (neutra ou antagônica) entre sete isolados bacterianos (B86, B88, B121, B74, B75, B84 e B85) obtidos a partir de dois biofertilizantes comerciais

Efeito	Combinações	Combinações
B74	B86 + B88 + B121	B75 + B84 + B85
B75	B74 + B84 + B85	B86 + B88 + B121
B84	B74 + B75 + B85	B86 + B88 + B121
B85	B74 + B75 + B84	B86 + B88 + B121
B86	B74 + B75 + B84	B85 + B88 + B121
B88	B74 + B75 + B84	B85 + B86 + B121
B121	B74 + B75 + B84	B85 + B86 + B84

Fonte: Autores

As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas com fotoperíodo de 12 horas, incubadas à $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ e examinadas periodicamente quanto ao crescimento das bactérias e presença ou ausência de halos de inibição.

Resultados

Todas as combinações testadas apresentaram efeito neutro, pois não foi observada a presença de halos.

Discussão

Os resultados obtidos em nossa pesquisa são animadores pois indicam que essas bactérias podem ser empregadas de forma combinada para manejo dos fitonematoides, pois elas não tem efeito antagônico entre si. Segundo Dupponois & Mateille (1999), o uso combinado de microrganismos para manejo de fitonematoides é uma prática comum.

Os agentes de controle biológico, usados isoladamente, podem não proporcionar controle desejável, mas a integração desses agentes apresentando diferentes modos de ação, associado a outras táticas, podem levar a medidas sustentáveis de manejo de fitonematoides com menor ou nenhuma dependência de nematicidas.

As principais vantagens das rizobactérias para aplicação comercial são: a) fácil produção massal devido à habilidade que possuem de serem cultivadas *in vitro*; b) fácil armazenamento; c) boa adaptação às tecnologias de formulação; d) não requerimento de manipulação genética; e) eficiente crescimento saprofítico; f) pequenas quantidades de inóculo são necessárias para aplicação; g) aplicação simples; h) não dependência de fontes de energia para sua sobrevivência; i) à medida que as raízes crescem, se tornam colonizadas pelas rizobactérias; j) apresentam atividade antagônica a fitonematóides durante a fase mais sensível de desenvolvimento das culturas, ou seja, durante o desenvolvimento inicial e k) é economicamente e ecologicamente aceitável (ALVES et al., 2012; ALVES et al 2014; ALVES et al 2015; ALVES et al 2016).

Devido à sua alta toxicidade ao homem e ambiente, além de alto custo, muitos nematicidas químicos já foram excluídos e outros correm o risco de sair do mercado. Com isso, os produtos microbianos e naturais ganham grande importância e são candidatos potenciais a substituírem os químicos. Esse fato, associado a uma tendência da sociedade pela obtenção de produtos orgânicos, faz com que os produtos naturais tenham um futuro promissor, caso seu custo seja competitivo com os químicos (ALVES et al 2015; ALVES et al 2016).

Conclusão

Todas as combinações testadas apresentaram efeito neutro o que potencializa a possibilidade de uso dessas bactérias no manejo de fitonematoides.

Referências

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

AGROHUMUS: Adubos Orgânicos. Disponível em: <https://www.agrohumusorganicos.com/>. Acesso em: 01 de agosto de 2023.

ALVES, F. R.; CAMARA, G. R. ; CRUZ, T. P. ; RODRIGUES, J. S. Fatores bióticos que afetam a sobrevivência de bactérias nematófagas. In: Adésio Ferreira; José Carlos Lopes; Márcia Flores da Silva Ferreira; Taís Cristina Bastos Soares. (Org.). **Tópicos Especiais em Produção Vegetal VI**. 01ed.Vitória, ES: UFES, p. 185-198, 2016

ALVES, F. R.; SOUZA, R. M . Nematophagous Bacteria: Survival Biology. In: Tarique Hassan Askary; Paulo Roberto Pala Martinelli. (Org.). **Biocontrol Agents of Phytonematodes**. 01ed.Boston: CABI International, 2015, p. 256-275, 2015.

ALVES, F. R.; ZINGER, F. D. ; CRUZ, T. P. ; Souza, R.M. de ; COSTA, D. C. . Controle Biológico de Nematoides: Uma abordagem Prática. In: Dirceu Pratissoli, Waldir Cintra de Jesus Jr., Hugo Bolsoni Zago, Fábio Ramos Alves, Ulysses Rodrigues Viana, Hugo José Gonçalves dos Santos Jr., Celson Rodrigues. (Org.). **TÓPICOS ESPECIAIS EM PRODUÇÃO VEGETAL III**. Illed.Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica Editora, 2012, v., p. 238-278.

ALVES, F. R.; FREITAS, L. G. . Controle biológico de fitonematoides. In: Laercio Zambolim, Waldir Cintra de Jesus Jr.; Fabricio de Ávila Rodrigues.. (Org.). **O essencial da fitopatologia, controle de doenças de plantas**. 01ed.Viçosa, MG: Editora UFV, 2014, v. , p. 235-264.

CÔGO, A. Caracterização da microbiota antagonista em biofertilizantes e seu papel nas interações multitróficas para o manejo do Meloidogyne exigua em cafeeiro arábica, **Dissertação** (Mestrado em Agronomia), Alegre- ES, 2020.

DUPONNOIS, R.; BA, A.M.; MATEILLE, T. 1999. Beneficial effects of Enterobacter cloacae and Pseudomonas mendocina to biocontrol of Meloidogyne incognita with the endospore-forming bacterium Pasteuria penetrans. **Nematology**, 1(1):95-101.

FERRAZ, L.C.C.B. As meloidoginose da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J.F.V. (Org.). **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginose da soja**. Londrina: Embrapa Soja/Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 15-38, 2001.

FIGUEIREDO, M.S. Efeito de Biofertilizantes, produtos químicos e biológicos no manejo de Meloidogyne exigua e na produtividade de café arábica na Zona da Mata de Minas Gerais. **Dissertação** (Mestrado em Produção vegetal), Alegre- ES, 2020.

KEARN, James et al. Fluensulfone is a nematicide with a mode of action distinct from anticholinesterases and macrocyclic lactones. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 109, p. 44-57, 2014.

MARIANO, R. L. R.; SOUZA, E. B. **Manual de Práticas em Fitobacteriologia**. 3o

MOURA, R.M. O Gênero Meloidogyne e a meloidoginose. Parte II. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, v. 5, cap. 8, p. 281-315, 1997.

NEVES, W.S. et al. Avaliação de isolados de bactérias e do fungo Trichoderma spp. obtidos de solos tratados com farinha de sementes de mamão para o controle de Meloidogyne javanica. In: SOUSA , C.S ; SABIONI, S.C; LIMA, F.S. **Agroecologia Métodos e Técnicas para uma Agricultura Sustentável** . GUARUJÁ - SP: Científica digital, p.191-201, 2021.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

WESTCOTT, S.W.; KLUEPFEL, D.A. 1993. Inhibition of *Criconebella xenoplax* egg hatch by *Pseudomonas eueofaciens*. **Phytopatology**, 83(11):1245-49.