

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

EFEITO DE BACTERIAS PRESENTES NO VITAFLEX E NO MAXFERT NA MORTALIDADE DE *Meloidogyne exigua*

Caio Portes Deorce Pimenta, Milena Barbosa Parreira da Silva, Íris Petronilia Dutra, Rayla Vieira Frangilo, Sâmela Cansi Gomes, Fábio Ramos Alves, André da Silva Xavier.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitario, S/N – Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, caiopimenta3@gmail.com, milenabarbosa1504@gmail.com, iris.dutra@edu.ufes.br, raylavieira1997@gmail.com, samelacasin@hotmail.com, fabio.alves@ufes.br, andre.s.xavier@ufes.br

Resumo

Bactérias são organismos cosmopolitas e podem causar a morte de fitonematoides. Algumas bactérias destroem nematoides através do parasitismo, enquanto outras bactérias promovem redução dos nematoides por outros modos de ação. Objetivou-se com esse estudo avaliar a eficácia de bactérias obtidas a partir de dois biofertilizantes, vitaflex e maxfert, na redução da população de *Meloidogyne exigua*. O experimento foi conduzido 'in vitro' em delineamento inteiramente casualizado, envolvendo 6 tratamentos (isolados bacterianos) e 4 repetições. Todos os isolados demonstraram eficácia na mortalidade dos juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. exigua*.

Palavras-chave: Nematoides de galhas. Manejo. Rizobacterias

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma

Introdução

Os nematoides constituem o grupo de organismos pluricelulares mais abundantes em nosso planeta (KIMPINSKI; STURZ, 2003). Dentre os grandes grupos de nematoides estão os fitonematoides, ou nematoides parasitas de plantas, que causam perdas econômicas em uma grande variedade de culturas. Estes organismos alimentam-se e reproduzem-se em plantas vivas principalmente em regiões tropicais e subtropicais (SIKORA; FERNANDEZ, 2005).

Os fitonematoides estão associados a raízes de cafeeiro em diversos países, mas as espécies do gênero *Meloidogyne* são as que causam maiores prejuízos. Dentre as mais de 90 espécies do gênero *Meloidogyne* (HUNT, HANDOO, 2009), 18 atacam o cafeeiro (CARNEIRO, COFCEWICZ, 2008) e três são economicamente importantes no Brasil: *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis* (CAMPOS & VILLAIN, 2005). Em plantio de cafeeiro arábica destaca-se *M. exigua* (SILVAROLLA et al., 1998).

Por se tratar de patógenos de solo, o manejo de fitonematoides é complexo, exigindo a integração de métodos, sendo os mais utilizados o controle genético, cultural e químico, sendo este último o mais frequente por apresentar resultados rápidos (BERNARD, EGNIN E BONSI et al, 2017; FERRAZ, 2018; ZASADA et al., 2018). Porém, devido ao seu alto custo e à sua toxicidade à organismos não alvos (invertebrados, mamíferos e seres humanos) e impacto ambiental (DONG; KEARN et al., 2014), pesquisadores em todo o mundo têm buscado formas alternativas para manejo de fitonematoides. Nesse contexto, o uso de biofertilizantes, como o Maxfert e o Vitaflex, tem se mostrado uma alternativa viável, com a vantagem de não contaminar o meio ambiente e não ser tóxico ao homem e animais (YADAV, 2017).

Metodologia

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos (isolados bacterianos) e 4 repetições. O controle negativo foi constituído de água + nematoides e o controle positivo de nematicida (Nimitz 0,0001 mL), para efeito comparativo. Um micro tubo eppendorf de 2 mL foi considerado uma repetição. Foram utilizados os isolados bacterianos B74, B78 e B79.

Para a reativação dessas culturas puras de bactérias, previamente isoladas, utilizou-se a técnica de semeadura por espalhamento (MARIANO; SOUZA, 2016) sendo as culturas retiradas da preservação

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

em glicerol à -20°C e realizadas repicagens simples, pipetando-se aproximadamente 150 μL das suspensões em placas Petri contendo meio de Agar nutriente (AN).

Após crescimento das colônias por 48 horas, as placas foram levadas à câmara de fluxo laminar onde foi feita a ressuspensão das culturas bacterianas em água destilada esterilizada (ADE), com o auxílio de uma alça de Drigalsky, em condições assépticas. Cada suspensão bacteriana foi adicionada separadamente a um tubo de Falcon de 50 mL contendo 10 mL ADE, e imediatamente homogeneizadas em agitador de tubos do tipo Vortex Marconi.

As suspensões obtidas foram transferidas para erlemeyer de 50 mL e calibradas espectrofotômetro ($\text{OD}=0,6$) a partir da leitura da absorbância no comprimento de onda de 640 nanômetros. Os mesmos procedimentos foram realizados para todas as bactérias

Para determinar o efeito dos isolados bacterianos na mortalidade dos juvenis de segundo estágio de *M. exigua* (J_2) em cada micro tubo foram colocados 700 μL de uma suspensão aquosa contendo 32 J_2 recém-eclodidos e 700 μL de suspensão de cultura de cada isolado bacteriano. Após 72 horas incubados a $28^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, os tubos enpedorf foram retirados da BOD e os nematoides quantificados em lâmina de contagem de Peters com auxílio de um microscópio estereoscópio

A porcentagem de mortalidade foi calculada comparando-se o número de J_2 nos tratamentos e na testemunha.

A mortalidade de J_2 foi calculada de acordo com a fórmula: $\text{MJ} (\%) = (D/T) \times 100$,

Em que: MJ representa a mortalidade de J_2

D representa o número de J_2 mortos e

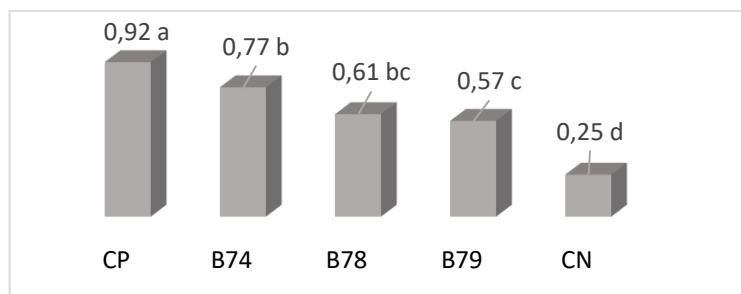
T o número total de J_2 (YIN, 2021).

A análise estatística dos dados foi feita com o uso do modelo linear generalizado ou modelo de regressão multivariada (GLM) através do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM). A comparação das médias entre os tratamentos deu-se pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Resultados

Todos os isolados foram eficientes na mortalidade dos J_2 de *M. exigua*.

Figura 1 – Eficiência de três isolados bacterianos (B74, B78 e B79) no percentual de mortalidade (%) de *Meloidogyne exigua* após 72 horas de exposição.



Fonte: Autores

Médias seguidas da mesma letra não difere estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-knott a 5%

Discussão

O uso bactérias para o manejo de fitonematoides vem sendo estudado nos últimos anos, o que pode ser explicado pelos elevados riscos à saúde humana e ao ambiente causados pelos nematicidas comerciais e pela busca por produtos que promovam menor impacto ambiental (RODRIGUES et al., 2016).

A maioria das estratégias de triagem 'in vitro' alavancam a capacidade de cepas bacterianas antagônicas causar a mortalidade de J_2 ou suprimir a eclosão de juvenis (WEI et al., 2010). Numerosos

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

estudos relataram que filtrados de culturas bacterianas também mostram atividade nematicida 'in vitro' (ALI et al., 2002; MENDONZA, et al., 2008).

O sucesso para a mortalidade de fitonematoides devido à ação bactérias deve-se ao fato delas produzirem algumas substâncias como compostos voláteis, ácidos graxos, sulfeto de hidrogênio, enzimas, hormônios, álcool e compostos fenólicos. Tais produtos podem ser tóxicos para os nematoides ou, caso esses estejam no solo, podem suprimir indiretamente a população de nematoides por meio da modificação da rizosfera (YOUSSEF e EISSA, 2014).

Rizobactérias que têm sido estudadas para o biocontrole de fitonematoides incluem *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Streptomyces*. De acordo com Stirling (1991), o grupo das pseudomonas fluorescentes é o mais encontrado nos solos, principalmente durante períodos de grande produção de exudatos radiculares.

Rovira & Sands (1971) citados por Akhtar e Mali (2000), também afirmam que as bactérias do gênero *Pseudomonas* estão entre as mais abundantes na rizosfera, uma vez que são encontradas em materiais orgânicos.

As bactérias apresentam potencial para serem empregadas em formulações comerciais e as principais vantagens 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).

Conclusão

Todos os isolados foram eficientes na mortalidade dos J₂ de *M. exigua*.

Referências

CAMPOS V, VILLAIN L (2005) Nematode parasites of Coffee and Cocoa. In: Luc M, Sikora RA, Bridge J (Eds.) **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 2ª ed. Egham, UK. CABI. pp. 529-580.

CAMPOS, V.P.; SOUZA, J. T. de, SOUZA, R.M. Controle de fitonematoides por meio de bactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.6, p. 285-327, 1998.

CARNEIRO RMDG, COFCEWICZ ET. Taxonomy of coffee-parasitic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. In: Souza RM (Ed.) **Plant-Parasitic Nematodes of Coffee**. Dordrecht, NL. Springer ScienceBusiness. pp.87- 121, 2008.

EL-SHENNAWY, M. Z. et al. Biological control of the disease complex on potato caused by root-knot nematode and Fusarium wilt fungus, 2012.

JIANG, Chun-Hao et al. Evaluation of root-knot nematode disease control and plant growth promotion potential of biofertilizer Ning shield on *Trichosanthes kirilowii* in the field. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, n. 2, p. 232-239, 2018.

KIMPINSKI, J.; STURZ, A. V. Managing crop root zone ecosystems for prevention of harmful and encouragement of beneficial nematodes. **Soil and Tillage Research**, v. 72, n. 2, p. 213-221, 2003.

LIMA, et al. Gerenciamento de nematoides no sistema de produção do cafeeiro 'Conilon'. In: PARTELLI, F. L.; ESPINDULA, M. C. Café Conilon : **conhecimento para superar desafios**. Alegre, ES : CAUFES, Cap. 4, p. 61-74, 2019.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

- LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. São Paulo: Nobel, 1982. 314p.
- MAHGOOB, A. E. A.; EL-TAYEB, T. S. Biological Control of the Root-Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* on Tomato Using Plant Growth Promoting Bacteria. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 20, n. 2, 2010.
- MATTOS, V.S. Caracterização e identificação de populações de *Meloidogyne* spp. Do arroz, estabelecimento de marcadores SCAR e seleção de novas fontes de resistência em *Oryza* spp. a *M. graminicola*. **TESE** (Doutorado em Fitopatologia), BRASÍLIA-DF, 2017.
- MENDOZA, A.R, KIEWNICK, S.; SIKORA, R.A. In vitro activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*, **Biocontrol Science and Technology**, v.18, n.4, p.377-389, 2008. Doi: 10.1080/09583150801952143.
- 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
- RODRIGUES, L.L.; ALVES, F.R.; CHAGAS, E.N.; CAMARA, G.R.; SILVA, G.A.; JESUS JUNIOR, W.C.; MORAES, W.B. 2016. Management of *Meloidogyne javanica* with biological pesticides and oils in a lettuce field. **Nematoda**, 3:01-09.
- SIDDIQUI, Z. A, MAHMOOD, I. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: A review. **Bioresource Technol**, v.69, n.2, p. 167–179, 1999. Doi: 10.1016/S0960-8524(98)00122-9
- SIKORA. R. A.; FERNANDEZ, E. Nematodes parasites of vegetables. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant-parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. 2nd ed. Wallingford: Cabi, 2005. p. 319-392.
- SILVAROLLA, GONÇALVES, LIMA. Resistência do Cafeeiro a Nematóides V – Reprodução de *Meloidogyne exigua* em Cafeeiros Derivados da Hibridação de *Coffea arábica* com *C. canéfora*. **Nematologia Brasileira**, vol. 22(2), p. 51-59, 1998.
- UNT DJ, HANDOO ZA (2009) Taxonomy, **identification and principal species**. In: Perry RN, Moens M, Starr JL (Eds.) Root-Knot Nematodes. Egham, UK. CABI. pp. 55-88.
- YIN, N. et al. Volatile Organic Compounds of *Bacillus cereus* Strain Bc-cm103 Exhibit Fumigation Activity against *Meloidogyne incognita*. *Plant disease*, v. 105, n. 4, p. 904-911, 2021. Doi: 10.1094/PDIS-04-20-0783-RE YOUSSEF, M. M. A.; EISSA, M. F. M. **Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes**. A rev
- YOUSSEF, M. M. A.; EL-GHONAIMY, A. M.; EL-NAGDI, W. M. A. Evaluation of some commercial bacterial biofertilizers and isolates against root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infesting green bean, *Phaseolus vulgaris*. *Sci Agric*, v. 10, n. 1, p. 49-54, 2015ew. **Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2014.