

## 10587 - Actinobactérias no biocontrole de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood em mudas de quiabeiro

*Actinobacterias for biocontrol of Meloidogyne javanica (Treub) Chitwood in okra plants*

DAMASCENO, Josilda Cavalcante Amorim<sup>1</sup>; SOARES, Ana Cristina Fermino<sup>1</sup>; JESUS, Jucimara Anunciação<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - 44380000 - Cruz das Almas, BA, josildacavalcante@yahoo.com.br; acsoares@ufrb.edu.br; <sup>2</sup>Mestranda em Produção Vegetal, UENF/RJ, jucidejesus@yahoo.com.br

**Resumo:** Este trabalho objetivou avaliar o efeito de actinobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood em mudas de quiabeiro. Foi instalado um bioensaio em tubos do tipo Eppendorf, com 50µl de uma suspensão com 25 juvenis de *M. javanica* e 500µl de meio de cultura contendo os metabólitos produzidos por cinco isolados de actinobactérias, a temperatura ambiente. O percentual de nematóides mortos foi determinado após a incubação por 24 e 48 horas com os metabólitos e 24 horas em água potável. Para os testes na planta, o substrato Vivatto Slim® foi infestado com actinobactérias e incubado por 40 dias, seguido de semeadura do quiabeiro. Quinze dias após a germinação, realizou-se a inoculação das raízes com 1000 juvenis de *M. javanica* por planta e, após 35 dias fez-se a coleta das plantas. Metabólitos produzidos pelas actinobactérias causaram mortalidade de *M. javanica* acima de 50%. Houve redução de até 75% e 65,5% na massa de ovos e número de galhas por planta desenvolvida no substrato tratado com o isolado AC 50. Houve incremento de 39,4% na massa seca da parte aérea das plantas em relação ao controle sem actinobactérias.

**Palavras -Chave:** *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, biocontrole, nematoide das galhas, *Streptomyces* spp.

**Abstract:** This study aimed to evaluate the effect of actinobacteria for control of the nematode *Meloidogyne javanica*(Treub) Chitwood in okra plants. A bioassay was conducted in Eppendorf tubes with a 50 µl suspension of 25 juveniles of *M. javanica* and 500µl of liquid growth medium with metabolites produced by the actinobacteria, with incubation at room temperature. The percentage of dead nematodes was determined after incubation for 24 and 48 hours in metabolites and 24 hours in drinking water. For the tests in okra plants, potting mix Vivatto Slim® was infested with actinobacteria and incubated for 40 days and after that, okra seeds were sown. Fifteen days after germination, the roots were inoculated with 1000 juveniles of *M. javanica* per plant and plants were harvested 35 days after inoculation. Secondary metabolites produced by isolates of actinobacteria caused mortality rates of *M. javanica* above 50%. There was a reduction of up to 75% and 65.5% in egg masses and the number of galls in plants grown in potting mix treated with isolated AC 50. There was an increase of 39.4% in shoot dry weight of plants in comparison to control plants grown in soil without actinobacterias.

**Key words:** *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, biocontrol, root-knot; *Streptomyces* spp.

### Introdução

O consumo de hortaliças tem aumentado devido à maior conscientização da população,

em busca de uma dieta alimentar mais rica e saudável. Desse modo, o desenvolvimento de sistemas de cultivo de hortaliças, visando à otimização da produção tem exigido dos agricultores esforços no sentido de reduzir, ou até mesmo eliminar deficiências do setor produtivo, como problemas nutricionais e fitossanitários das mudas (MONTEZANO & PEIL 2006).

Os fitonematóides causam elevadas perdas na produção agrícola mundial, sendo o gênero *Meloidogyne* considerado o mais importante, devido à capacidade de adaptação aos mais diversos agrossistemas e por parasitar ampla gama de hospedeiros (SINCLAIR & BACKMANN, 1993). Os nematicidas são empregados no controle de nematóides, muitos desses produtos, além de onerosos, são nocivos ao homem e ao ambiente. Neste sentido, o controle biológico surge como uma alternativa viável para o manejo de fitonematoides, por minimizar o dano ambiental e por ser mais vantajoso economicamente, comparado aos nematicidas convencionais (COIMBRA & CAMPOS, 2005).

Micro-organismos da rizosfera, conhecidos como rizobactérias, têm proporcionado defesa contra o ataque de patógenos de solo em plantas (WELLER, 1988). As actinobactérias apresentam potencial o controle biológico de fitopatógenos, em razão da diversidade de metabólitos secundários produzidos por esse gênero e da capacidade competitiva por substratos (INBAR et al., 2005). O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de isolados de actinobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, em mudas de quiabeiro.

## **Materiais e Métodos**

Foram avaliados cinco isolados de actinobactérias (AC12, AC26, AC50, AC 92 e AC 147) provenientes da coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola da UFRB. Os isolados de actinobactérias foram multiplicados em placas de Petri contendo meio de cultura sólido AGS e incubadas em câmara de crescimento tipo B.O.D., à temperatura de 28°C por 10 dias. Após este período, as culturas foram transferidas para meio de cultura líquido AGS e incubadas durante 14 dias a 28 ± 2°C, em agitador orbital, a 140rpm. Posteriormente, foram centrifugadas a 15000rpm por 10 minutos para separar as células de actinobactérias do meio líquido com os metabólitos secundários (sobrenadante). Para obtenção dos J2, raízes de tomateiro, cultivado em casa de vegetação, após inoculação com *M. javanica*, foram lavadas com água potável e trituradas em liquidificador por 20 segundos com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% (BONETI & FERRAZ, 1981).

Foi instalado um bioensaio em tubos do tipo Eppendorf, esterilizados, com todos os isolados de actinobactérias selecionados anteriormente. Foram adicionados 50µl de uma suspensão contendo 25 juvenis de *M. javanica*, juntamente com 500µl de meio de cultura líquido contendo os metabólitos produzidos pelos isolados de actinobactérias. Os tubos foram mantidos em temperatura ambiente, incubados durante 24, 48 e 72 horas. O percentual de nematóides imóveis e mortos foi determinado após a incubação por 24 e 48 horas em metabólitos e 72 horas em água potável. Nos tratamentos controle, os J2 foram incubados em água destilada esterilizada e em meio líquido AGS sem cultivo de actinobactérias.

Para avaliar o efeito das actinobactérias no controle de *M. javanica* em mudas de quiabeiro

cultivadas em substrato Vivatto Slim®, foi instalado um experimento em delineamento inteiramente ao acaso, constando de 6 tratamentos com 8 repetições. Utilizou-se os isolados de actinobactérias mencionados anteriormente. As actinobactérias foram cultivadas em frascos de Erlenmeyer contendo 50g de arroz esterilizado (SOARES et al., 2007), incubados a 30°C por 14 dias. O substrato foi infestado com a suspensão de actinobactérias e incubado por 40 dias, à temperatura ambiente, em sacos de polietileno. Após esse período realizou-se a sementeira do quiabeiro em sacos de mudas. Aos 15 dias após a germinação, foi feita a inoculação das mudas com 1000 juvenis de *M. javanica* por planta. Aos 35 dias depois da inoculação com *M. javanica*, foi realizada a coleta das plantas, avaliando-se a massa seca da parte aérea e raízes, o número de massa de ovos e galhas por planta.

## Resultados e Discussão

Os metabólitos produzidos pelos isolados de actinobactérias em meio de cultura causaram a imobilidade e mortalidade dos juvenis de *M. javanica* quando comparados aos controles em água e em meio de cultura (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de metabólitos de actinobactérias na motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) de *M. javanica* após 24, 48 e 72 horas de exposição.

	Juvenis do segundo estágio (J2) de <i>M. javanica</i>		
	Imóveis (%)		Mortos (%)
	24	48	72
Test (água)	3,7 d	7,30 d	18,5 d
Test (AGS)	30,5 c	33,4 c	34,3 c
AC 12	80,4 a	80,5 a	87,0 a
AC 26	73,5 ab	51,2 b	36,0 c
AC 50	67,8 b	69,7 a	73,7 ab
AC 92	70,0 ab	71,8 ab	78,8 a
AC 147	76,2 ab	82,1 a	63,7 b

Letra iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O isolado AC 26 demonstrou somente efeito nematostático após 24 e 48 horas de avaliação, pois os nematoides, quando transferidos para água, retomaram a mobilidade. Com exceção do isolado AC 26, todos os isolados causaram mortalidade dos juvenis acima de 50%. A imobilidade e mortalidade de J2 de *M. javanica* aumentaram com o aumento do período de exposição aos metabólitos de 24 para 48 horas, conforme observado por Naves et al., (2004), com melhores resultados após 72 horas.

O substrato tratado com as actinobactérias promoveu redução significativa no número de galhas e massa de ovos nas raízes de mudas de quiabeiro. Para massa de ovos por planta, os isolados AC 50, AC 26, AC 147 e AC 92 promoveram reduções de 75%, 52,1%, 51,8% e 31,6%, respectivamente (Tabela 2). Todos os isolados causaram diminuição no número de galhas. Para a produção de massa da parte aérea, os isolados AC 50 e AC 147 foram superiores à testemunha, com incrementos de 39,4% e 31,6%, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MS), massa de ovos e número de galhas de mudas de quiabeiro cultivadas em substrato infestado com

os isolados de actinobactérias, inoculados com nematóide *M. javanica*.

Isolados	MSPA (g)	MSR (g)	Massa de ovos (MO)		Número de Galhas (NG)	
			MO/planta	Redução (%) MO/planta (%)	NG/planta	Redução (%)
Controle	3,8 b	0,49 a	64,3 a		105,0 a	
AC 12	3,5 b	0,40 a	79,5 a	-	72,1 b	31,3
AC 26	3,7 b	0,51 a	30,8 b	52,1	37,3 c	64,5
AC 50	5,3 a	0,77 a	16,1 c	75,0	36,2 c	65,5
AC 92	3,8 b	0,47 a	44,0 b	31,6	75,7 b	28,0
AC 147	5,0 a	0,75 a	31,0 b	51,8	39,5 c	62,4

Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os isolados codificados como AC 50 e AC 147 promoveram resultados semelhantes nos testes *in vitro* e na planta, com efeito nematicida, bem como aumentaram a massa seca da parte aérea (Tabelas 1 e 2). O substrato foi incubado com as actinobactérias por um período de 40 dias antes do plantio. Nesse período, pode ocorrer a colonização e produção de metabólitos secundários no solo, que atuam na mortalidade dos juvenis, consequentemente, reduzindo a infectividade nas raízes de quiabeiro.

Coimbra & Campos (2010) relataram reduções no número de galhas e massa de ovos por grama de raiz de tomateiro atacada por *M. javanica* quando inoculadas com dez isolados de actinobactérias. As bactérias promotoras de crescimento vegetal influenciam no crescimento das plantas por meio da indução de resistência a doenças, produção de substâncias como antibióticos, sideróforos, fitohormônios e por meio da fixação biológica de nitrogênio e solubilização de fosfatos (FREITAS, 2007).

## Conclusão

Os isolados de actinobactérias codificados como AC 50 e AC 147 apresentam potencial para o controle de *Meloidogyne javanica* e o crescimento de mudas de quiabeiro.

## Bibliografia Citada

BONETTI, J.I.S., FERRAZ, S. Modificações no método Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua*, em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, p.533, 1981.

COIMBRA, J.L.; CAMPOS V.P. Efeito de exsudatos de colônias e de filtrados de culturas de actinomicetos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p.232-238, 2005.

COIMBRA, J.L.; CAMPOS, V.P. Efeito antagônico de actinobactérias isolados de ervas daninhas e gramíneas na formação de galhas e na reprodução de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.10, n.2, p.144-153, 2010.

FREITAS, S.S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In: SILVEIRA, A. P.D.; Freitas, S.S. (Eds.). **Microbiota do solo e Qualidade ambiental**, Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p.1-20, 2007.

INBAR, E. *et al.* Competing factors of compost concentration and proximity to root affect the distribution of streptomycetes. **Microbial Ecology**, v.50, n.1, p.73-81, 2005.

MONTEZANO, E.M., PEIL, R.M.N. Sistemas de consórcio na produção de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.12, n.2, p.129-132, 2006.

NAVES, R.L., CAMPOS, V.P., SOUZA, R.M. Filtrados de culturas bacterianas endofíticas na motilidade, mortalidade e eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.384-387, 2004.

SINCLAIR, J.B. & BACKMANN, P.A. **Compendium of Soybean Diseases**. APS Press, St. Paul, Minnesota, 106p. 1993.

SOARES, A.C.F., SOUSA, C.S., GARRIDO, M.S., PEREZ, J.O. Production of streptomycete inoculum in sterilized rice. **Scientia Agricola**, v.64, n.6, p.241-244, 2007.

WELLER, D.M. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review Phytopathology** v.26, p.379-407, 1988.