

Efeito da Bactéria *Pasteuria penetrans* em Populações de Nematóide-das-galhas, *Meloidogyne arenaria*



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 79

Efeito da Bactéria *Pasteuria penetrans* em Populações de Nematóide-das-galhas, *Meloidogyne arenaria*

Ravi Datt Sharma
Wellington A. Moreira
Roberto Teixeira Alves

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73310-970 Planaltina - DF

Fone: (61) 388-9898

Fax: (61) 388-9879

<http://www.cpac.embrapa.br>

sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Dimas Vital Siqueira Resck*

Editor Técnico: *Carlos Roberto Spehar*

Secretária-Executiva: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Supervisão editorial: *Jaime Arbués Carneiro*

Revisão de texto: *Jaime Arbués Carneiro*

Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro*

Capa: *Chaile Cherne Soares Evangelista*

Editoração eletrônica: *Leila Sandra Gomes Alencar*

Impressão e acabamento: *Divino Batista de Souza*

Jaime Arbués Carneiro

Impresso no Serviço Gráfico da Embrapa Cerrados

1ª edição

1ª impressão (2003): tiragem 100 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Cerrados.

S531e Sharma, Ravi Datt.

Efeito da bactéria *Pasteuria penetrans* em populações de nematóide-das-galhas, *Meloidogyne arenaria* / Ravi Datt Sharma, Wellington A. Moreira, Roberto Teixeira Alves. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2003.

12 p. — (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados, ISSN 1676-918X ; 79)

1. Controle biológico. 2. *Pasteuria penetrans*. 3. Nematóide. I. Moreira, Wellington A. II. Alves, Roberto Teixeira. III. Título. IV. Série.

632.96 - CDD 21

© Embrapa 2003

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	7
Resultados e Discussão	9
Conclusão	11
Referências Bibliográficas	11

Efeito da Bactéria *Pasteuria penetrans* em Populações de Nematóide-das-galhas, *Meloidogyne arenaria*

Ravi Datt Sharma¹

Wellington A. Moreira²

Roberto Teixeira Alves³

Resumo – Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficiência de *Pasteuria penetrans* em populações de *Meloidogyne arenaria* em casa-de-vegetação. Os tratamentos foram compostos de quatro doses de inóculo de *P. penetrans*: 0, $3,25 \times 10^5$, $6,50 \times 10^5$ e $1,300 \times 10^6$ endósporos/kg de solo/vaso aplicadas em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne arenaria* e outros nematóides fitoparasitas. Logo depois da incorporação da bactéria foi semeada, uma semente de feijão (cv. Carioca) por tubo. O experimento foi avaliado em três etapas: a primeira, passados 77 dias do plantio de feijão; a segunda, aos 133 dias depois do primeiro plantio de soja cv. Cristalina e a terceira, 108 dias depois do segundo plantio da soja cv. Doko RC em seqüência. Na primeira etapa, houve redução drástica na população final de *M. arenaria* em relação à população inicial em todos os tratamentos devido ao ataque severo do nematóide, resultando na morte das plantas. Na segunda etapa, houve ligeiro aumento na população final do nematóide *M. arenaria* no tratamento $6,50 \times 10^5$ endósporos/kg de solo mas não houve diferença significativa entre os tratamentos. Na terceira etapa, o nematóide *M. arenaria* foi eliminado totalmente do solo em todos os tratamentos ($p < 0,05$). A bactéria *P. penetrans* mostrou-se altamente eficiente no controle do *M. arenaria*, mesmo no nível mais baixo ($3,25 \cdot 10^5$, endósporos/kg de solo), no período de 318 dias.

Termos para Indexação: *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, nematóide das galhas do amendoim, supressividade, controle biológico.

¹ Eng. Agrôn., D.Sc., Embrapa Cerrados, sharma@cpac.embrapa.br

² Eng. Agrôn., D.Sc., wellington@cpatsa.embrapa.br

³ Eng. Agrôn., Ph.D. Embrapa Cerrados, ralves@cpac.embrapa.br

Effect of a bacteria *Pasteuria penetrans* on the populations of root-knot nematode, *Meloidogyne* *arenaria*

Abstract – In a greenhouse experiment, the efficiency of *Pasteuria penetrans* was evaluated against the populations of *Meloidogyne arenaria* using naturally infested soil with this nematode on three susceptible crops grown in a sequence (common bean- soybean- soybean), using four inoculum levels of *P. penetrans* viz., 0 (check); $3,25 \times 10^5$; $6,50 \times 10^5$ e $1,300 \times 10^6$ endospores/kg of soil/tube. After incorporation of bacteria, one seed of common bean was sown per pot. The experiment was evaluated in three steps: 77 days after planting common bean (cv. Carioca); 133 days after planting soybean (cv. Cristalina) and 108 days second planting of soybean (cv. Doko RC). There was no difference between the treatments in the first evaluation ($p > 0,05$). In the second evaluation, the little increase in the final population of *M. arenaria* was observed with $6,5 \times 10^5$ endospores/kg of soil, but did not differ significantly from other treatments. In the third evaluation, *M. arenaria* populations were eliminated in all the treatments and differed significantly ($p < 0.05$) from the check. The results showed that *P. penetrans* is highly efficient in the control of *M. arenaria*, even at the lowest level ($3,25 \times 10^5$ endospores/kg of soil) within a period of 318 days.

Index Terms: *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, soybean, root-knot nematode, suppressiveness, biological control.

Introdução

O nematóide das galhas, *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, 1949, causa sérios danos às diversas culturas, na Região do Cerrado.

Muitos microorganismos de solo são conhecidos parasitas ou predadores dos fitonematóides e entre eles, a bactéria *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr.

A ocorrência de *P. penetrans* tem sido observada em solos supressivos a nematóides (Stirling, 1984; [Brown et al., 1985](#); [Rodríguez-Kábana et al., 1986](#); [Bird & Brisbane, 1988](#); [Minton & Sayre, 1989](#); [Davies et al., 1991](#); [Oostendorp et al., 1991](#); [Chen et al., 1996](#); [Weibelzahl-Fulton et al., 1996](#); Freitas et al., 1997).

O uso potencial de *P. penetrans* como agente de controle tem sido estudado principalmente, do nematóide das galhas ([Mankau, 1975](#); [Sayre, 1980](#); [Stirling, 1984](#); [Brown et al., 1985](#); [Dube & Smart, 1987](#); [Dickson et al., 1990](#); [Gowen & Ahmed, 1990](#); [Davies et al., 1991](#); [Oostendorp et al., 1991](#); [Sharma, 1992](#); [Sharma & Vivaldi, 1996](#); [Gowen & Tzortzakakis, 1994](#); Souza & Campos, 1997; [Tzortzakakis & Gowen, 1994](#)).

Entretanto, a dificuldade para multiplicar essa bactéria em larga escala, *in vitro*, restringe seu uso em áreas cultivadas e em viveiros. Normalmente, sistemas radiculares de tomateiros contendo grandes quantidades de fêmeas de *Meloidogyne* spp. parasitadas por *P. penetrans*, são secas ao ar e moídas finamente em forma de pó para serem aplicadas em solos infestados com *Meloidogyne* spp. Investigou-se a eficácia de diferentes concentrações de endósporos de *P. penetrans* em forma de pó de raízes, infestadas e secas, como fonte de inóculo para o controle de *M. arenaria* em três cultivos sucessivos de feijão, soja e soja susceptíveis ao referido nematóide, em casa-de-vegetação.

Material e Métodos

O isolado de *Pasteuria penetrans*, detectado em 1987, parasitando *M. javanica* em parcela experimental de arroz na Embrapa Cerrados, Planaltina, Distrito Federal, foi multiplicado em *M. javanica*, de acordo com a metodologia descrita por [Stirling & Wachtel, 1980](#). A partir de 1991, iniciou-se a produção massal dessa bactéria, utilizando o método da Bandeja ([Sharma & Stirling, 1991](#)). Raízes secas e moídas de tomateiro cv. Cereja contendo $1,3 \times 10^6$ de endósporos

da bactéria *P. penetrans* por grama de pó foram usadas como inóculo. O número de bactéria/g de raízes foi quantificado usando método descrito por [Sharma & Stirling \(1993\)](#).

Desse material, foi aplicado na superfície de solo de cada tubo em quatro doses: 0, 250, 500, e 1000 mg/kg de solo/tubo para obtenção de quatro doses de endósporos de *P. penetrans*: 0, 325×10^3 , 650×10^3 e 1300×10^3 endósporos/kg de solo respectivamente.

O experimento foi instalada em casa-de-vegetação da Embrapa Cerrados, Planaltina, Distrito Federal em março de 1997. O solo foi coletado em campo de soja infestado por *M. arenaria* e homogeneizado antes do enchimento de 20 tubos de PVC com 1 kg de capacidade com 7,5 cm de diâmetro e 20 cm de altura com fundos fechados com tela de nylon. Avaliaram-se as densidades populacionais dos nematóides no solo e nas raízes pela técnica modificada de Coolen ([Coolen, 1979](#)) cujos valores por 50 gramas de solo foram: *M. arenaria* (149), *Pratylenchus brachyurus* (9), *Helicotylenchus dihystra* (5).

A bactéria foi aplicada na superfície de solo de cada tubo em quatro concentrações: 0, 250, 500, e 1000 mg do pó de raízes infestadas/kg de solo /tubo, obtendo-se assim 0 (Testemunha), $3,25 \times 10^5$, $6,50 \times 10^5$ e $1,300 \times 10^6$ endósporos/kg de solo respectivamente. Logo depois, plantou-se uma semente de feijão (cv. Carioca) por tubo, seguida de irrigação com 50 mL de água destilada. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com temperatura variando de 16 a 35 °C e irrigada com solução nutritiva de Hoagland a cada 15 dias. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições.

Setenta e sete dias depois cortou-se a parte aérea das plantas, e as raízes foram separadas cuidadosamente do solo, que retornou ao tubo para novo plantio. Obtiveram-se nesse primeiro plantio com feijão os seguintes dados: número de endósporos aderidos a juvenis do segundo estágio (J_2) e população final de *M. arenaria* obtida pelo somatório de juvenis, ovos, machos e fêmeas. O número de endósporos aderidos aos J_2 foi estimado em 20 indivíduos por tubo.

Nesse mesmo tubo com o solo remanescente, plantou-se uma semente de soja cv. Cristalina, recebendo manejo semelhante ao do feijão. Cento e trinta e três dias depois do primeiro plantio da soja, a parte aérea foi cortada e as raízes

foram cuidadosamente separadas do solo, que retornou novamente ao tubo. Obtivou-se assim o peso fresco das raízes para determinação da população final de *M. arenaria*.

Novamente, plantou-se uma semente da soja cv. Doko RC por tubo, e as plantas foram conduzidas como descrito anteriormente. Cento e oito dias depois, procedeu-se da mesma forma anteriormente descrita, obtendo-se os seguintes dados: o peso fresco das raízes e população final de *M. arenaria*.

As populações de nematóides e o número de endósporos aderidos por J₂ do *M. arenaria* foram transformados em $\sqrt{X} + 0,5$ e analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Pasteuria penetrans reduziu a população de *M. arenaria* a partir da segunda avaliação; entretanto, apenas diferiu da testemunha na terceira avaliação ([Tabela 1](#)), sugerindo o aumento de inóculos da bactéria no solo durante os plantios. Sharma & Vivaldi (1996) encontraram mais inóculo de *P. penetrans* no solo em plantios consecutivos da soja no solo infestado com *M. javanica*. Os Resultados obtidos sugerem o fenômeno de supressividade desse solo, fato também observado por [Stirling, 1984](#); [Brown et al., 1985](#); [Rodríguez-Kabana et al., 1986](#); [Davies et al., 1991](#); [Oostendorp et al., 1991](#); e [Chen et al., 1996](#).

Os maiores níveis de inóculo na segunda avaliação reduziram a população de *M. arenaria* sem diferirem estatisticamente entre si ([Tabela 1](#)), confirmando os dados obtidos por Sharma & Vivaldi (1996).

Depois de três cultivos sucessivos de plantas susceptíveis, a população de *M. arenaria* foi eliminada totalmente em todas as doses utilizadas. Apesar de a baixa produção da bactéria *in vitro*, pelo método de [Stirling & Wachtel \(1980\)](#), dificultar seu uso como nematicida biológico; por meio desse estudo, verificou-se que seu potencial pode ser explorado em virtude do cultivo sucessivo com plantas tolerantes ao nematóide, até que o solo se torne supressivo. Assim sendo, mais pesquisas serão necessárias para melhorar os métodos de multiplicação massal dessa bactéria e reduzir as dosagens para uso.

Tabela 1. Efeito de diferentes doses de endósporos de *Pasteuria penetrans* na densidade populacional de *Meloidogyne arenaria* e no parasitismo pela bactéria em três plantios consecutivos.

Endósporos por kg de solo	Densidade de <i>M. arenaria</i> por g de raiz e no 50 g de solo			Número de endósporos por J ₂		
	1ª Etapa	2ª Etapa	3ª Etapa	1ª Etapa	2ª Etapa	3ª Etapa
0 (Testemunha)	28 a	634 a	57,80	0,0 d	0,0 b	0
3,25x10 ⁵	34 a	308 a	0,00	4,3 c	15,4 a	0
6,50x10 ⁵	34 a	166 a	0,00	12,8 b	18,8 a	0
1,300x10 ⁶	21 ^a	194 a	0,00	23,3 a	24,4 a	0
C.V. (%)	26,29	46,29	63,66	14,07	43,99	-

¹ As médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05). As densidades originais de nematóides e número de endósporos/J₂ foram transformados em $\sqrt{x + 0.5}$ para análise de variância.

A bactéria *P. penetrans* mostrou-se eficiente no controle do *M. arenaria*, mesmo na dose mais baixa de 3,25x10⁵ endósporos/kg de solo no período de 318 dias em condições de casa-de-vegetação. Entretanto, fatores como altas temperaturas e debilitação das plantas de feijoeiro por ácaros e oídio, possivelmente colaboraram para a redução da população de *M. arenaria* em todos os tratamentos, no primeiro plantio. Estudos de campo são necessários para confirmar essa supressividade em áreas de cultivo.

O número de endósporos por J₂ cresceu sempre com os plantios feitos, demonstrando o aumento de inóculo nas diversas avaliações (Tabela 1). [Oostendorp et al., 1991](#); [Rodriguez-Kábana et al., 1986](#) e [Sharma & Vivaldi \(1996\)](#) também encontraram resultados semelhantes. Os pesos frescos de raiz e da parte aérea não diferiram da testemunha em nenhuma das avaliações realizadas; Resultados semelhantes foram obtidos por [Stirling, 1984](#); [Sharma, 1992](#). Outros nematóides ocorreram nos solos utilizados, entretanto, não eram hospedeiros de *P. penetrans*, dessa forma suas populações não foram reduzidas pela bactéria comparadas com a testemunha.

Depois de três plantios sucessivos das culturas susceptíveis ao nematóide, a população do *M. arenaria* foi reduzida ao nível de zero em todos os tratamentos.

Conclusão

1. A bactéria *P. penetrans* mostrou-se altamente eficiente no controle do nematóide das galhas, *M. arenaria*, mesmo no nível mais baixo de $3,25 \times 10^5$ endósporos/kg de solo no período de 318 dias.

Referências Bibliográficas

- BIRD, A. F.; BRISBANE, P. G. The influence of *Pasteuria penetrans* in field soils on the reproduction of root-knot nematodes. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 11, p. 75-81, 1988.
- BROWN, S. M.; KEPNER, J. L.; SMART, G. C. Increased crop yields following application of *Bacillus penetrans* in field plots infested with *Meloidogyne incognita*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 17, p. 483-486, 1985.
- CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W.; McSORLEY, R.; MITCHELL, D. J.; HEWLETT, T.E. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 28, p. 159-168, 1996.
- COOLEN, W. A. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C. E. (Ed.). **Root-knot nematodes, *Meloidogyne* species: systematics, biology and control**. London: Academic Press, 1979. p. 317-329.
- DAVIES, K. G.; LAIR, V.; KERRY, B. R. The motility, development and infection of *Meloidogyne incognita* encumbered with spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 14, p. 611-618, 1991.
- DICKSON, D. W.; OOSTENDORP, M.; MITCHELL, D. J. *Pasteuria penetrans* a biological control agent of nematodes. **Nematologica**, Leiden, v. 36, p. 345, 1990.
- DUBE, B.; SMART, G. C.J. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 19, p. 222-227, 1987.
- GOWEN, S. R.; AHMED, R. *Pasteuria penetrans* for control of pathogenic nematodes. **Aspects of Applied Biology**, v. 24, p. 25-31, 1990.

- GOWEN, S. R.; TZORTZAKAKIS, E. A. Biological control of *Meloidogyne* spp. with *Pasteuria penetrans*. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 24, p. 495-500, 1994.
- MANKAU, R. *Bacillus penetrans* n. comb. causing a virulent disease of plant - parasitic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 26, p. 333-339, 1975.
- MINTON, N. A.; SAYRE, R. M. Suppressive influence of *Pasteuria penetrans* in Georgia soils on reproduction of *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 21, p. 574-575, 1989.
- OOSTENDORP, M.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Population development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 23, p. 58-64, 1991.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. C.; WEAVER, C. F.; ROBERTSON, D. G.; SNODDY, E. L. Population dynamics of *Meloidogyne arenaria* juveniles in a field with Florenner peanut. **Nematropica**, Auburn, v. 16, p. 185-196, 1986.
- SAYRE, R. M., Biocontrol: *Bacillus penetans* and related parasites of nematodes. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 12, p. 260, 1980.
- SHARMA, R. D. Biocontrol efficiency of *Pasteuria penetrans* against *Meloidogyne javanica*. **Ciência Biológica Ecologia e Sistemática**, v. 12, n. 1/2, p. 43-47, 1992.
- SHARMA, R. D.; STIRLING, G. R. *In vivo* mass production systems for *Pasteuria penetrans*. **Nematologica**, Leiden, v. 37, n. 4, p. 483-485, 1991.
- STIRLING, G.R. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, p. 55-60, 1984.
- STIRLING, G.R.; WACHTEL, M.F. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effect on infectivity. **Nematologica**, Leiden, v. 26, p. 308-312, 1980.
- TZORTZAKAKIS, E. A.; GOWEN, S. R. The evaluation of *Pasteuria penetrans* alone and in combination with oxamyl, plant resistance and solarization for control of *Meloidogyne* spp. on vegetables grown in greenhouses of Crete. **Crop Protection**, Surrey, v. 13, p. 455-462, 1994.
- WEIBELZAHN-FULTON, E.; DICKSON, D. W.; WHITTY, E. B. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* by *Pasteuria penetrans* in field soil. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 28, p. 43-49, 1996.