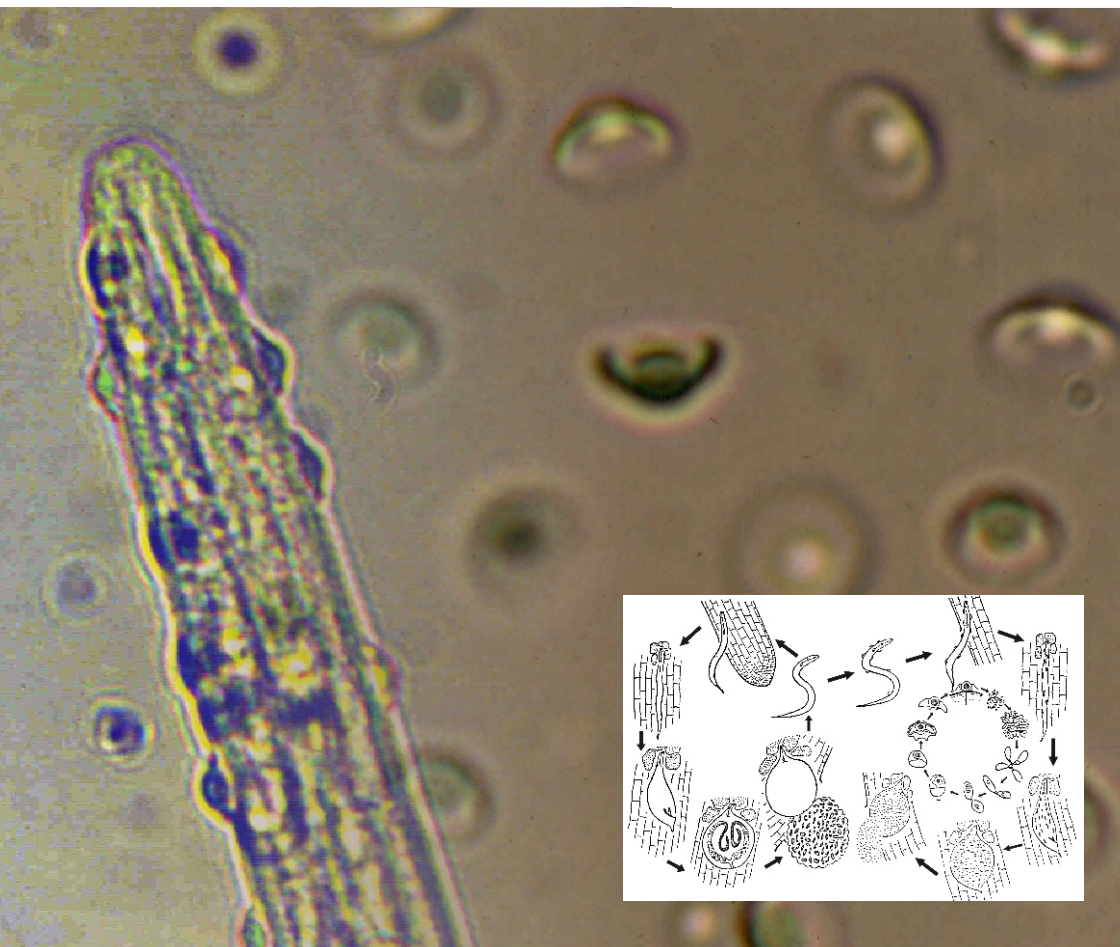


## Controle Biológico do Nematóide-das-galhas com a Bactéria *Pasteuria penetrans*





Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Cerrados  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 1676-918X

Março, 2003

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80***

## **Controle Biológico do Nematóide-das-galhas com a Bactéria *Pasteuria penetrans***

Ravi Datt Sharma  
Lúcio José Vivaldi

Planaltina, DF  
2003

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: *Maria Helena Gonçalves Teixeira*

Normalização bibliográfica: *Shirley da Luz Soares*

Capa: *Wellington Cavalcanti*

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.

---

S531c Sharma, Ravi Datt.

Controle biológico do nematóide-das-galhas com a bactéria *Pasteuria penetrans* / Ravi Datt Sharma, Lúcio José Vivaldi. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2003.

13 p. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados, ISSN 1676-918X ; 80)

1. Controle biológico - nematóide. 2. Nematóide-das-galhas. I. Vivaldi, Lúcio José. II. Título. III. Série.

---

632.96 - CDD 21

© Embrapa 2003

# Sumário

Resumo .....	5
Abstract .....	6
Introdução .....	7
Material e Métodos .....	7
Resultados e Discussão .....	8
Conclusão .....	11
Referências Bibliográficas .....	11

# Controle Biológico do Nematóide-das-galhas com a Bactéria *Pasteuria penetrans*

Ravi Datt Sharma<sup>1</sup>

Lúcio José Vivaldi<sup>2</sup>

**Resumo** - Avaliou-se a eficiência de *Pasteuria penetrans* no controle de *Meloidogyne javanica* em condições de casa de vegetação. Os tratamentos foram compostos de quatro níveis de inóculo de *P. penetrans*, 0,  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo autoclavado. Imediatamente depois da inoculação do solo autoclavado com a bactéria *P. penetrans*, mil juvenis de segundo estágio de *M. javanica* foram inoculados em cada vaso. Às 48 horas da inoculação do nematóide, uma plântula de soja cv. FT-Cristalina, com três dias de idade, foi transplantada para cada vaso. O experimento foi avaliado em duas etapas: a primeira, 89 dias depois do transplante da soja e a segunda, aos 90 dias depois de um segundo plantio de soja, em seqüência a um pousio de 30 dias. Na primeira avaliação, o maior peso da matéria fresca da planta foi obtido no tratamento com  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo, o que diferiu ( $P < 0,05$ ) dos demais tratamentos exceto da testemunha. A redução na população final do nematóide nos tratamentos  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo, em relação à testemunha, foi de 50,1%, 89,1% e 81,8%, respectivamente. Na segunda avaliação, o controle do nematóide nos níveis de  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo foi de 94,7%, 99,7% e 100%, respectivamente.

Termos para indexação: *Glycine max*, soja, densidade populacional, supressividade, biocontrole.

<sup>1</sup> Eng. Agrôn., Ph.D., Embrapa Cerrados, sharma@cpac.embrapa.br

<sup>2</sup> Eng. Agrôn., Ph.D., Professor do Departamento de Estatística da UnB.

# Biological Control of Root-Knot Nematode by the Bacteria *Pasteuria Penetrans*

---

**Abstract** - The efficiency of *Pasteuria penetrans* was evaluated against *Meloidogyne javanica* on soybean cv. FT-Cristalina using four inoculum levels of *P. penetrans* viz. 0,  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  and  $100 \times 10^5$  endospores/kg of soil/pot under greenhouse conditions. Immediately after inoculating the autoclaved soil with *P. penetrans*, 1000 second stage juveniles of *M. Javanica* were inoculated in each pot. After 48 hours of nematode inoculation, a 3-day old soybean seedling was transplanted in each pot. The first evaluation was made after 89 days of transplanting the seedlings; and the second after 90 days of soybean sowing in sequence with a fallowing period of 30 days. In the first evaluation, the fresh plant weight was observed in treatment  $100 \times 10^5$  endospores/kg of soil, which differed ( $P < 0.05$ ) from other treatments except the untreated control. In the first evaluation, the nematode control obtained for treatments  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  and  $100 \times 10^5$  endospores/kg of soil was 50.1%, 89.1% and 81.8% respectively. In the second evaluation, the control obtained for treatments  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  and  $100 \times 10^5$  endospores/kg of soil was 94.7%, 99.7% and 100%, respectively in comparison to the untreated control.

**Index terms:** *Glycine max*, soybean, population density, suppressiveness, biocontrol.

## Introdução

O nematóide-das-galhas (*Meloidogyne javanica*) causa sérios danos às diversas culturas na Região do Cerrado. Inúmeros microrganismos de solo são conhecidos como parasitas ou predadores dos fitonematóides. O organismo geralmente considerado um dos mais potentes agentes de controle biológico contra o nematóide-das-galhas é a bactéria hiperparasita obrigatória, formadora de micélio e endósporos, *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr. O uso potencial de *P. penetrans*, como agente de controle biológico tem sido estudado, principalmente, para o nematóide-das-galhas ([Mankau, 1975](#); [Sayre, 1980](#); [Stirling, 1984](#); [Brown et al., 1985](#); [Dube & Smart, 1987](#); [Dickson et al., 1990](#); [Gowen & Ahmed, 1990](#); [Gowen & Tzortzakakis, 1994](#); [Davies et al., 1991](#); [Oostendorp et al., 1991](#); [Sharma, 1992](#); [Tzortzakakis & Gowen, 1994](#)).

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](#); [De Leij et al., 1992](#); [Chen et al., 1996](#)). Entretanto, a dificuldade para multiplicar essa bactéria em larga escala, *in vitro*, restringe seu uso a pequenas áreas cultivadas e a viveiros. Normalmente, sistemas radiculares de tomateiros contendo grandes quantidades de fêmeas de *Meloidogyne* spp. parasitadas por *P. penetrans* são secados ao ar e moídos finamente em forma de pó e aplicados em solos infestados com *Meloidogyne* spp. Neste estudo, procurou-se investigar a eficácia de diferentes densidades de endósporos de *P. penetrans* no solo como fonte de inóculo primário para o controle de *M. javanica* em soja, em casa de vegetação.

## Material e Métodos

Em 1987, um isolado de *Pasteuria penetrans* foi detectado em uma população de *M. javanica*, em uma parcela experimental de arroz, na Embrapa Cerrados, Planaltina, Distrito Federal e 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](#)).

A bactéria, *P. penetrans* foi multiplicada em um solo cultivado sucessivamente com tomateiro cv. Cereja inoculado com J2 de *M. javanica*, por quatro anos. Esse solo com 10<sup>5</sup> endósporos da bactéria por grama de solo foi utilizado para

a obtenção dos três níveis de inóculo ( $0$ ,  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo autoclavado). Para se conseguir esses níveis, misturou-se em 1000, 990, 950 e 900 g de solo autoclavado 0, 10, 50 e 100 g respectivamente do solo previamente infestado com *P. penetrans* que continha  $10^5$  endósporos/g de solo. Preparadas as misturas, colocou-se 1 kg em tubo de PVC com 7,5 cm de diâmetro e 20 cm de altura com fundo fechado com tela de nylon. A densidade de endósporos da bactéria no solo foi determinada pelo método de [Stirling et al. \(1990\)](#). Passadas 48 horas da inoculação com mil juvenis de segunda estádio (J2) de *M. javanica*, uma plântula de soja - *Glycine max.* (L.) Merrill cv. FT-Cristalina - com três dias foi transplantada para esses tubos. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (quatro níveis de inóculo) e quatro repetições.

A primeira avaliação do ensaio ocorreu aos 89 dias depois do transplante, quando foram determinados o peso da matéria fresca da planta, o peso da matéria fresca das vagens/planta, o número de massas de ovos/planta, o número de endósporos aderidos aos J2 e a população final do nematóide (juvenis, ovos, machos e fêmeas) no solo e nas raízes. As densidades populacionais do nematóide no solo e nas raízes foram determinadas pela técnica modificada de Coolen ([Coolen, 1979](#)). O número de endósporos aderidos aos juvenis de segundo estádio foi estimado em amostras de 20 indivíduos.

Feita a primeira avaliação, o solo de cada vaso foi deixado em pousio por 30 dias, época em que uma semente de soja cv. FT-Cristalina foi semeada em cada recipiente. Decorridos 90 dias, procedeu-se à determinação da população final do nematóide no solo e nas raízes. Os dados foram transformados em  $\log(x + 1)$  e analisados estatisticamente pelo Teste de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh a 5% de probabilidade ([SAS, 1989](#)).

## Resultados e Discussão

O maior peso da planta (parte aérea + raiz) foi obtido no tratamento com o nível mais alto de inóculo da bactéria que diferiu, significativamente ( $P < 0,05$ ), dos demais tratamentos, exceto da testemunha. O peso da matéria fresca das vagens no tratamento com o nível mais alto de inóculo da bactéria diferiu significativamente ( $P < 0,05$ ) dos demais tratamentos. Os acréscimos nos pesos da matéria fresca das vagens, obtidos nos tratamentos  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos em relação à testemunha, foram de 18,7% e 53,7%, respectivamente ([Tabela 1](#)).



O maior número de massas de ovos foi encontrado no tratamento testemunha (sem a bactéria) e diferiu significativamente ( $P < 0,05$ ) dos demais tratamentos. A população final do nematóide, nos tratamentos com médio e alto níveis de inóculos da bactéria, diferiu significativamente ( $P < 0,05$ ) da testemunha. As reduções nas populações finais do nematóide nos tratamentos  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos em relação à testemunha foram respectivamente de 50,9%, 89,1% e 81,8%. O menor e o maior números de endósporos/J2 foram observados nos tratamentos  $10 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo, respectivamente. Não houve diferença significativa quanto ao número de endósporos/J2 entre os tratamentos  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos, mas os dois diferiram significativamente ( $P < 0,05$ ) do tratamento  $10 \times 10^5$  endósporos/kg de solo ([Tabela 1](#)).

Na segunda avaliação, a população final do nematóide na testemunha (sem a bactéria) diferiu significativamente ( $P < 0,01$ ) dos demais tratamentos. Os níveis de controle de *M. javanica* nos tratamentos  $10 \times 10^5$ ,  $50 \times 10^5$  e  $100 \times 10^5$  endósporos/kg de solo foram de 94,7%, 99,7% e 100%, respectivamente ([Tabela 2](#)).

Os resultados obtidos na primeira avaliação estão de acordo com os de [Mankau, 1975](#); [Sayre, 1980](#); [Stirling, 1984](#); [Brown et al., 1985](#); [Dube & Smart, 1987](#); [Gowen & Ahmed 1990](#); [Gowen & Tzortzakakis, 1994](#); [Oostendorp et al., 1991](#); [Sharma, 1992](#); [Tzortzakakis & Gowen, 1994](#). Na segunda avaliação, a população de *M. javanica* foi suprimida drasticamente pela *P. penetrans* em todos os tratamentos, nos quais a bactéria estava presente, sugerindo o fenômeno de supressividade do solo, fato também observado por [Stirling, 1984](#); [Brown et al., 1985](#); [Rodríguez-Kábana et al., 1986](#); [Davies et al., 1991](#); [Oostendorp et al., 1991](#); [De Leij et al., 1992](#). A concentração de  $10 \times 10^5$  endósporos/kg de solo foi necessária para que a bactéria reduzisse em 50,1% a população de *M. javanica* no período de 89 dias. Aos 120 dias, essa redução alcançou 94,7%. A aplicação de *P. penetrans* via solo infestado com endósporos resultou em níveis de controle de *M. javanica* semelhantes aos alcançados com a veiculação da bactéria por meio de métodos convencionais ([Mankau, 1975](#); [Minton & Sayre, 1989](#)). Portanto, o mito de que a não-produção da bactéria *in vitro* limita seu uso como nematicida biológico não corresponde à realidade. Como verificado neste trabalho, seu potencial pode ser explorado facilmente até que o solo se torne supressivo ao nematóide. Sem dúvida, mais pesquisas serão necessárias para melhorar os métodos de multiplicação massal dessa bactéria e reduzir as dosagens para uso.

Pelos dados obtidos, confirma-se a eficiência de *P. penetrans* no controle de *M. javanica*.

**Tabela 1.** Efeito de diferentes concentrações de endósporos de *Pasteuria penetrans* no solo sobre o controle de *Meloidogyne javanica* em soja cv. FT-Cristalina, 89 dias depois da inoculação com 1000 J<sub>2</sub> do nematóide sob condições de casa de vegetação (primeira avaliação)<sup>1</sup>.

Tratamento (Nº de endósporos por kg de solo)	Peso fresco da planta (g)	Peso fresco de vagens por planta (g)	Número de massas de ovos por sistema radicular	Número de endósporos aderidos/J <sub>2</sub>	População do nematóide (solo + raízes)	Controle do nematóide (%)
10 x 10 <sup>5</sup>	35,3 c	11,0 b	13,0 b	3,0 b	135 ab	50,1
50 x 10 <sup>5</sup>	40,2 bc	15,9 b	6,0 b	15,2 a	30 b	89,1
100 x 10 <sup>5</sup>	56,2 a	20,6 a	4,0 b	15,7 a	50 b	81,8
Testemunha (nível 0)	55,5 ab	13,4 b	46,5 a	0,0 c	275 a	0,0
C.V. (%)	19,00	16,70	59,28	7,99	14,52	-

<sup>1</sup> As médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo Teste de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch Multiple Range Test ( $p < 0,05$ ); os dados foram transformados em  $\log(x + 1)$  para análise.

**Tabela 2.** Efeito residual de diferentes doses de endósporos de *Pasteuria penetrans* no solo sobre o controle de *Meloidogyne javanica* em soja cv. FT-Cristalina. (segunda avaliação)<sup>1</sup>.

Tratamento (Nº de endósporos/kg do solo)	População final do nematóide (solo + raiz) <sup>1</sup>	Controle (%)
10 x 10 <sup>5</sup>	628 b	94,7
50 x 10 <sup>5</sup>	33 c	99,7
100 x 10 <sup>5</sup>	0 d	100
Testemunha (nível 0)	11790 a	0
C.V. (%)	7,31	-

<sup>1</sup> As médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo Teste de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch Multiple Range Test ( $p < 0,05$ ); os dados foram transformados em  $\log(x + 1)$  para análise.

## Conclusão

1. A aplicação de *Pasteuria penetrans* via solo infestado com endósporos, mesmo em baixa concentração, resulta no controle eficiente de *M. javanica*, em soja.

## 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*, 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*, 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*, 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. Eds. 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*, v.14, p.611-618, 1991.

DE LEIJ, F.; DAVIES, K.G.; KERRY, B.R. The use of *Verticillium chlamydosporium* Goddard and *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr alone and in combination to control *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *Fundamental and Applied Nematology*, v.15, p.235-242, 1992.

DICKSON, D.W.; OOSTENDORP, M.; MITCHELL, D.L. *Pasteuria penetrans* a biological control agent of nematodes. *Nematologica*, v.36, p. 345, 1990.

DUBE, B.; SMART, G.C.Jr. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology*, v.19, p.222-227, 1987.

EINOT, I.; GABRIEL, K.R. A study of the powers of several methods of multiple comparisons. *Journal of the American Statistical Association*, v.70, p.351, 1975.

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*, v. 24, p.495-500, 1994.

MANKAU, R. *Bacillus penetrans* n. comb. causing a virulent disease of plant-parasitic nematodes. *Journal of invertebrate Pathology*, 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*, 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*, v.23, p.58-64, 1991.

RYAN, T.A. Multiple comparisons in psychological Research. *Psychological Bulletin*, v. 56, p. 26-47, 1959.

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*, v.16, p.185-196, 1986.

SAS. Statistical Analysis Systems. Stat User's Guide, Version 6, v. 2, Campus drive, Cary, N.C., 1992.

SAYRE, R.M. Biocontrol: *Bacillus penetans* and related parasites of nematodes. Journal of Nematology, v.12, p.260, 1980.

SHARMA, R.D. Biocontrol efficiency of *Pasteuria penetrans* against *Meloidogyne javanica*. Ciência Biológica Ecologia e Systemática (Portugal), v.12, n.1/2, p.43-47, 1992.

SHARMA, R.D.; STIRLING, G.R. *In vivo* mass production systems for *Pasteuria penetrans*. Nematologica, v.37, n. 4, p.483-485, 1991.

STIRLING, G.R. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. Phytopathology, v.74, p.55-60, 1984.

STIRLING, G.R.; SHARMA, R.D.; PERRY, J. Attachment of *Pasteuria penetrans* spores to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effects on infectivity. Nematologica, v.36, p.246-252, 1990.

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, 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, v.13, p.455-462, 1994.

WELSH, R.E. Stepwise multiple comparison procedures. Journal of the American Statistical Association, v.72, p.359, 1977.