

CONTROLE DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* COM *PASTEURIA PENETRANS*¹

RAVI DATT SHARMA² e LÚCIO JOSÉ VIVALDI³

RESUMO - Objetivou-se, com esse trabalho, avaliar a eficiência de *Pasteuria penetrans* no controle de *Meloidogyne javanica* em condições de casa de vegetação. Os tratamentos eram compostos de quatro níveis de inóculo de *P. penetrans*, 0, 10×10^5 , 50×10^5 e 100×10^5 endósporos/kg de solo autoclavado. Imediatamente após a inoculação da bactéria *P. penetrans* no solo autoclavado, 1.000 juvenis de segundo estágio de *M. javanica* foram inoculados em cada vaso. Quarenta e oito horas após a 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 após o transplante da soja, e a segunda, 90 dias após um segundo plantio de soja, em seqüência a um período de 30 dias. Na primeira avaliação, o maior peso da matéria fresca da planta foi obtido no tratamento com 100×10^5 endósporos/kg de solo, o que diferiu significativamente ($P < 0,05$) dos demais tratamentos, exceto o da testemunha. O maior aumento no peso da matéria fresca das vagens, obtido no tratamento com 100×10^5 endósporos/kg de solo, diferiu significativamente ($P < 0,05$) dos demais tratamentos. A redução da população final do nematóide nos tratamentos com 10×10^5 , 50×10^5 e 100×10^5 endósporos/kg de solo, em relação à testemunha, foi de 50,9%, 89,1% e 81,8%, respectivamente. Na segunda avaliação, o controle do nematóide nos níveis de 10×10^5 , 50×10^5 e 100×10^5 endósporos/kg de solo foi de 94,7%, 99,7% e 100%, respectivamente. *P. penetrans* mostrou-se altamente eficiente no controle de *M. javanica*, mesmo no nível mais baixo de inóculo (10×10^5 endósporos/kg de solo).

Termos para indexação: *Glycine max*, soja, nematóide-de-galha, densidade populacional, supressividade do solo, biocontrole.

CONTROL OF *MELOIDOGYNE JAVANICA* BY *PASTEURIA PENETRANS*

ABSTRACT - In a greenhouse experiment, the efficiency of *Pasteuria penetrans* against *Meloidogyne javanica* was evaluated on soybean cv. FT-Cristalina using four inoculum levels of *P. penetrans* viz: 0, 10×10^5 , 50×10^5 and 100×10^5 endospores/kg of soil. Immediately after inoculating the autoclaved soil with *P. penetrans*, 1,000 second-stage juveniles were inoculated in each pot. After 48 hours of nematode inoculation, a 3-day old soybean seedling was transplanted in each pot. The experiment was evaluated in two steps of which 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 following period of 30 days. In the first evaluation, the highest fresh plant weight was observed in treatment with 100×10^5 endospores/kg of soil which differed significantly ($P < 0.05$) from other treatments except the untreated control. The maximum increase in fresh pod weight of treatment with 100×10^5 endospores/kg of soil differed significantly ($P < 0.05$) from the other treatments. The final nematode density in soil and roots for treatments 10×10^5 , 50×10^5 and 100×10^5 endospores/kg of soil was significantly ($P < 0.05$) lower than the untreated control. The nematode control obtained for treatments with 10×10^5 , 50×10^5 and 100×10^5 endospores/kg of soil was 50.9%, 89.1% and 81.8% respectively. In the second evaluation, the control obtained for treatments 10×10^5 , 50×10^5 and 100×10^5 endospores/kg of soil was 94.7%, 99.7% and 100%, respectively, in comparison to the untreated control. *P. penetrans* was highly efficient in the control of *M. javanica* even at the lowest concentration (10×10^5 endospores/kg of soil).

Index terms: *Glycine max*, soybean, root-knot nematode, population density, soil suppressiveness, biocontrol.

¹ Aceito para publicação em 5 de março de 1999.

² Eng. Agr., D.Sc., Embrapa-Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina, DF. E-mail: sharma@cpac.embrapa.br

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa-CPAC.

INTRODUÇÃO

O nematóide-de-galha (*Meloidogyne javanica*) causa sérios danos às diversas culturas na região

dos Cerrados. Inúmeros microorganismos 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-de-galha 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 com relação ao nematóide-de-galha (Mankau, 1975; Sayre, 1980; Stirling, 1984; Brown et al., 1985; Dube & Smart Junior, 1987; Gowen & Ahmed, 1990; Davies et al., 1991; Oostendorp et al., 1991; Sharma, 1992; Gowen & Tzortzakakis, 1994; 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 para pequenas áreas cultivadas e 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 até a 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, sob condições de casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

Em 1987, um isolado de *Pasteuria penetrans* foi detectado em uma população de *M. javanica* em parcela experimental de arroz na Embrapa-Centro de Pesquisa Agropécuaria dos Cerrados, Planaltina, DF, 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).

O substrato em que foi multiplicada a bactéria *P. penetrans* constituiu-se de uma mistura de 50% de areia

grossa e 50% de um Latossolo Vermelho-Escuro. Durante quatro anos sucessivos foi cultivado, nesse substrato, um tomateiro, cv. Cereja, no qual tal substrato foi inoculado com juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* parasitados (15 endósporos/J2), resultando na densidade de 1×10^5 endósporos/grama de solo. Em seguida, foram preparados quatro níveis de inóculo de bactéria: 0, 10×10^5 , 50×10^5 e 100×10^5 endósporos/kg de substrato autoclavado, utilizando-se, para isto, a mistura de 1.000, 990, 950 e 900 g do substrato com 0, 10, 50 e 100 g de solo infestado, respectivamente. Preparadas as misturas, colocou-se 1 kg desse solo em tubo de PVC com 7,5 cm de diâmetro e 20 cm de altura com fundo fechado com tela de náilon. A densidade de endósporos da bactéria no solo foi determinada pelo método de Stirling et al. (1990). Após 48 horas da inoculação com 1.000 juvenis de segundo estágio (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 após o 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 usando a técnica modificada por Coolen (1979). O número de endósporos aderidos aos juvenis de segundo estágio foi estimado em amostras de 20 indivíduos.

Após a primeira avaliação, o solo de cada vaso foi deixado em pousio por 30 dias, após o que, uma semente de soja cv. FT-Cristalina foi colocada 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, e 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 das matérias frescas das vagens, obtidos nos tratamentos com 50×10^5 e 100×10^5 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 com 10×10^5 , 50×10^5 e 100×10^5 , em relação à testemunha, foram, respectivamente, de 50,9%, 89,1% e 81,8%. O menor e o maior número de endósporos/J₂ foram observados no tratamento com 10×10^5 e 100×10^5 endósporos /kg de solo, respectivamente. Não houve diferença significativa quanto ao número de endósporos/J₂ entre os tratamentos com 50×10^5 e 100×10^5 , mas os dois diferiram significativamente ($P < 0,05$) do tratamento com 10×10^5 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 com 10×10^5 , 50×10^5 e 100×10^5 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 Junior (1987), Gowen & Ahmed (1990), Oostendorp et al. (1991), Sharma (1992), Gowen & Tzortzakakis (1994) e Tzortzakakis & Gowen (1994). Na segunda avaliação, a população de *M. javanica* foi suprimida drasticamente pela *P. penetrans* em todos os tratamentos onde a bactéria estava presente, o que sugere 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) e De Leij et al. (1992). A concentração de 10×10^5 endósporos/kg de solo foi necessária para que a bactéria reduzisse em 50,9% 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 via outros 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. Os dados obtidos mostram 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 após a inoculação com 1000 J₂ do nematóide, sob condições de casa de vegetação (1ª avaliação)¹.

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

¹ 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 (2ª avaliação).

Tratamento (nº de endósporos/kg do solo)	População final do nematóide (solo+raiz) ¹	Controle (%)
10x10 ⁵	628b	94,7
50x10 ⁵	33c	99,7
100x10 ⁵	0d	100,0
Testemunha	11790a	
C.V. (%)	7,31	

¹ 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

A aplicação de *Pasteuria penetrans* via solo infestado com endósporos, mesmo em baixa dosagem, resulta num controle eficiente de *M. javanica*, em soja.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), pelo financiamento do projeto; ao CNPq, pela Bolsa de Pesquisa; aos Assistentes de Pesquisa Emanoelita Cavalcanti de Lima e Valdeci de Matos Lima, pela colaboração na condução deste estudo.

REFERÊNCIAS

- 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, 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.
- DUBE, B.; SMART JUNIOR, G.C. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, 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**, 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.
- 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 INSTITUTE. **SAS/STAT, user's guide, version 6**. 4.ed. Cary, NC, 1989. v.2, 846p.

- SAYRE, R.M. Biocontrol: *Bacillus penetrans* and related parasites of nematodes. **Journal of Nematology**, v.12, p.260-270, 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**, 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.