

## Potencial de rizobactérias no controle de *Meloidogyne incognita* em figueira

Wille, Caroline Neugebauer<sup>1,6</sup>; Cesar Bauer Gomes<sup>2</sup>; Andrea Bittencourt Moura<sup>3</sup>; Ângela Diniz Campos<sup>4</sup>; Jaqueline Tavares Schafer<sup>4</sup>; Daniele de Brum<sup>5</sup>

<sup>1</sup>IFSUL Campus Camaquã, Rua Ana Gonçalves da Silva, 901, - Bairro Olaria, - CEP 96.180-000, Camaquã-RS- Brasil; <sup>2</sup>Embrapa CACT, CP 403, 96010-971, Pelotas-RS – Brasil; <sup>3</sup>UFPEL, Campus Universitário, C.P.354, Pelotas-RS – Brasil; <sup>4</sup>CACT, CP 403, 96010-971, Pelotas-RS; <sup>5</sup>PPGFs, UFPEL, Campus Universitário C.P.354, Capão do Leão-RS – Brasil; <sup>6</sup>Autor para correspondência: wille\_carol@yahoo.com.br

Wille, Caroline Neugebauer; Cesar Bauer Gomes; Andrea Bittencourt Moura; Ângela Diniz Campos; Jaqueline Tavares Schafer; Daniele de Brum (2018) Potencial de rizobactérias no controle de *Meloidogyne incognita* em figueira. Rev. Fac. Agron. Vol 117 (1): 23-30.

A figueira é economicamente importante pelo papel social que representa no contexto da agricultura familiar. No entanto, sua viabilidade econômica pode ser comprometida em áreas infestadas pelo nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) devido à carência de medidas de controle efetivas e disponíveis. Assim, a inserção do controle biológico no manejo integrado dessa praga constitui-se como uma estratégia importante. As rizobactérias são consideradas biocontroladoras promissoras por promover o crescimento vegetal e/ou inibir a ação parasítica dos fitonematoides sobre as plantas hospedeiras. Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho, avaliar o desempenho de 14 isolados bacterianos provenientes da rizosfera de figueira e de rochas de folhosos betuminosos, no biocontrole de *M. incognita* em figueira. Mudanças de figueira cv. 'Roxo de Valinhos' microbiolizadas com os isolados bacterianos foram transplantadas em solo naturalmente infestado com *M. incognita*. Sete isolados (F08, F25, F71, F76, F78, FB34 e FB59), reduziram significativamente o fator de reprodução do nematoide das galhas ( $P < 0,05$ ) em valores que variaram entre 20 e 49%. Contudo, além de suprimir a multiplicação do patógeno, o isolado F78 (*Streptomyces* sp.) promoveu aumento do peso de raízes, maiores índices de clorofila e conteúdo das enzimas de resistência peroxidases e polifenol-oxidases, e, redução na concentração de fenóis das figueiras microbiolizadas. Nesse sentido, a condução de trabalhos adicionais nesse patossistema pode possibilitar a melhor compreensão dos mecanismos de atuação das bactérias testadas no biocontrole de *M. incognita*, além de fornecer informações adicionais para a implementação dessa técnica em um programa de manejo integrado do nematoide das galhas.

**Palavras-chave:** controle biológico; rizobactérias; nematoide das galhas; figueira.

Wille, Caroline Neugebauer; Cesar Bauer Gomes; Andrea Bittencourt Moura; Ângela Diniz Campos; Jaqueline Tavares Schafer; Daniele de Brum (2018) Rhizobacteria potential in the control of *Meloidogyne incognita* in fig. Rev. Fac. Agron. Vol 117 (1): 23-30.

The fig tree is economically important for the social role it plays in the context of family farming. However, its economic viability can be compromised in infested areas by root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) due to lack of effective and available control measures. Therefore, the insertion of the biological control on the integrated management of this pest constitutes an important strategy. The rhizobacteria are considered promising biocontrol agents for promoting plant growth and or inhibit the parasitic action of plant-parasitic nematodes in the host plants. So, the aim of this study was to evaluate the performance of 14 bacterial isolates from the rhizosphere of fig and shale rocks in biocontrol of *M. incognita* in fig. Seedlings of fig plants of cv. 'Roxo de Valinhos' were microbiolized with these bacterial isolates and they were transplanted in soil naturally infested with *M. incognita* subsequently. Seven isolates (F08, F25, F71, F76, F78, FB34 and FB59) reduced the reproduction factor of the root-knot nematode ( $P < 0,05$ ) at rate ranging between 20 and 49%. Besides to suppress the pathogen reproduction, the isolated F78 (*Streptomyces* sp.) promoting increasing of root weight, higher chlorophyll contents and content peroxidases and polyphenol oxidases resistance enzymes, and reduction of the phenol concentration of microbiolized fig plants. In this sense, conducting further studies in this pathosystem can enable a better understanding of the action mechanisms of the bacteria tested in the biocontrol of *M. incognita*, as well as providing additional information for the implementation of this technique in an integrated management program of root-knot nematode.

**Keywords:** biological control; rhizobacteria; root-knot nematode; fig.

Recibido: 04/09/2015

Aceptado: 04/012/2017

Disponível on line: 10/09/2018

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

## INTRODUÇÃO

A ficicultura é uma atividade relevante no Brasil, país considerado o principal produtor de figos na América do Sul (Aliceweb, 2013) e um importante exportador das frutas para o mercado europeu durante a entressafra do Egito e da Turquia, principais produtores mundiais (FAO, 2013). No Brasil, os pomares de figueira (*Ficus carica* L.) são geralmente desenvolvidos em pequenas áreas de produção agrícola familiar (IBGE, 2013), sendo a cultivar Roxo de Valinhos, a mais cultivada (Leonel & Figueira, 2008).

Apesar de sua importância sócio-econômica, a cultura enfrenta dificuldades em relação ao manejo fitossanitário, principalmente em relação ao controle de fitonematoides (Gomes et al., 2009), com destaque para o nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) que é considerado a praga de solo com maior potencial de danos em diferentes partes do globo (El-Borai & Duncan, 2005; Abrantes et al., 2008). Em levantamento realizado por Lima-Medina e colaboradores (2013) em pomares de figueira do Rio Grande do Sul e de São Paulo, foram identificadas diferentes espécies do nematoide das galhas em figueira, sendo *M. incognita* com o fenótipo de esterase I2 a espécie mais frequente em ambos os estados.

Diversos fatores como a sensibilidade da cultivar Roxo de Valinhos ao nematoide das galhas (Lima-Medina et al., 2006), ausência de porta-enxertos resistentes no mercado brasileiro (Bueno et al., 2006), ausência de agrotóxicos registrados para cultura de figueira (AGROFIT, 2003) e o alto custo de práticas culturais como a adubação (Medeiros, 2002), agravam a situação nos pomares, o que tem contribuído seriamente pela estagnação da produção brasileira de figos (IBGE, 2013).

Considerando as dificuldades encontradas para o controle do nematoide das galhas na figueira, o manejo integrado desta praga, através do uso de agentes de controle biológico, deve ser considerado como estratégico para o referido patossistema. Pesquisas visando à aplicação de micro-organismos biocontroladores no manejo dessa praga estão voltadas principalmente para componentes da rizosfera com capacidade de modificar este ambiente, afetando direta ou indiretamente os fitonematoides (Machado et al., 2012). Neste sentido, diversos autores tem demonstrado a eficiência de rizobactérias (Freitas et al., 2005; Fabry et al., 2007; Alves et al., 2011) as quais são consideradas um dos agentes antagonistas mais propícios no controle de fitonematoides (Sikora, 1988). Essas bactérias atuam no controle biológico de diversas formas, interferindo na reprodução, sobrevivência e desenvolvimento dos nematoides através de diferentes mecanismos (Zuckerman & Jasson, 1984; Siddiqui & Mahmood, 1999). Além disso, podem estimular o crescimento vegetal através da fixação de nitrogênio (Vessey, 2003), da solubilização de fosfatos (Richardson, 2001), da mineralização de matéria orgânica (Romeiro, 2007) e de alterações benéficas no crescimento das plantas, na morfologia e no metabolismo do sistema radicular (Vessey, 2003).

Em virtude dessas características, na maioria dos trabalhos envolvendo seleção de bactérias para controle biológico, utilizam-se micro-organismos

oriundos do solo e rizosfera, existindo poucos relatos quanto à utilização de isolados provenientes de outros habitats. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que outros ambientes podem fornecer potenciais antagonistas (Ashoub & Amara, 2010). Além do antagonismo, micro-organismos, como os de ambiente rochoso, possuem diversas propriedades interessantes, como resistência a condições adversas (Hirsch et al., 2004) e disponibilização de nutrientes essenciais para as plantas através de processos de solubilização (Gadd, 1999; Gorbushina, 2007).

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial de bactérias biocontroladoras, isoladas da rizosfera de figueira e de ambiente rochoso, no biocontrole de *M. incognita* em figueira, em condições de casa-de-vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Isolados bacterianos

Os isolados bacterianos utilizados neste estudo fazem parte da coleção de micro-organismos do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Clima Temperado e foram identificados através do programa BLAST ("Basic Local Alignment Search. Tool"), por análise de homologia das sequências da região 16S do gene rRNA, obtidas através de reação em cadeia de polimerase-PCR, utilizando os nucleotídeos iniciadores universais correspondentes às posições 27f (5'-AGAGTTTGATCTGGCTCAG-3') e 1492R (5'-TACGGTACCTTGTTACGACTT-3') de *Escherichia coli*. Os isolados bacterianos F08 (*Bacillus* sp.), F25 (*Bacillus* sp.), F64 (*Microbacterium trichothecenolyticum*), F71 (*Bacillus* sp.), F75 (não identificado), F76 (*Streptomyces* sp.) e F78 (*Streptomyces* sp.) foram isolados da rizosfera de figueiras saudáveis da Estação Experimental Cascata da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, e os isolados FB27 (*Bacillus megaterium*), FB34 (*Arthrobacter oxydans*), FB39 (*Micrococcus luteus*), FB59 (*Pseudomonas denitrificans*), FB60 (não identificado), FB62 (*Janibacter terrae*) e FB68 (*Gordonia westfalica*) de rochas provenientes de folhelhos pirobetuminosos. Esses 14 isolados foram selecionados a partir de estudos conduzidos *in vitro*, onde os mesmos demonstraram potencial de uso por apresentarem resultado em elevada percentagem de mortalidade e inibição da eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* (Wille, 2013).

Para obtenção das suspensões bacterianas, os diferentes isolados selecionados, mantidos em culturas puras a 4°C, foram repicados para meio 523 de Kado e Heskett (1970) e incubados a 25°C por 24 a 48 h. Alternativamente, os isolados de actinomicetos (F75, F76 e F78) foram cultivados em meio Ácido Caseína Agar - ACA (2,0 g KNO<sub>3</sub>, 2,0 g NaCl, 2,0 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,02 g CaCO<sub>3</sub>, 0,01 g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 10 g amido, 0,3 g caseína, 15,0 g ágar, 1000 mL de água destilada) durante 96 h. Após a incubação, realizou-se a raspagem do meio de cultura das placas contendo os respectivos isolados e suspensão em solução salina (NaCl 0,85%) esterilizada. A seguir, as suspensões foram homogeneizadas e calibradas em espectrofotômetro a partir da leitura da

absorbância no comprimento de onda de 540 nanômetros, sendo padronizadas em  $A=0,5$ .

#### **Inóculo de *M. incognita* e característica do solo utilizado**

O solo utilizado (solo franco-arenoso, 14% de argila, 19,6% de silte, 66,7% de areia e textura= 4,0) foi proveniente de um pomar de figueiras cv. Roxo de Valinhos, naturalmente infestado com *M. incognita* (Est. I2) e situado na localidade de Vila Nova, Pelotas-RS.

Para determinação da população inicial do nematoide das galhas, quatro sub-amostras de 250 cm<sup>3</sup> desse solo foram processadas para extração (Jenkins, 1964), identificação (Mai & Mullin, 1996; UNL Nematologylab, 2012) e quantificação dos níveis populacionais. Nesse sentido, o inóculo presente no solo foi estimado em 5.850 J2 de *M. incognita*. A caracterização e confirmação da espécie de *Meloidogyne* presente no local foram realizadas pela extração de fêmeas leitosas das raízes de figueira e posterior e avaliação da isoenzima esterase em eletroforese (Carneiro & Almeida, 2001).

#### **Obtenção de mudas de figueira cultivar Roxo de Valinhos, microbiolização com os isolados bacterianos e transplante para solo naturalmente infestado com *M. incognita*.**

Para obtenção de micro-estacas de figueira cv. Roxo de Valinhos, ramos de 0,5 -1,0 cm de diâmetro foram extraídos de plantas mantidas em casa de vegetação. A seguir, micro-estacas de 3 a 5 cm de comprimento foram retiradas da parte intermediária dos ramos para enraizamento em Clonex® (0,3% ácido indol butírico) durante 30 segundos. Em seguida, as frações obtidas foram plantadas em vasos de 300 mL contendo solo autoclavado e mantidas em casa-de-vegetação para enraizamento e formação das mudas.

Após quatro meses de idade as mudas obtidas receberam duas aplicações de 30mL da suspensão bacteriana  $A=0,5$  de cada isolado separadamente, com intervalo de 15 dias entre cada aplicação. As testemunhas, nas mesmas condições, receberam duas aplicações de solução salina em volume e período igual àquelas submetidas aos tratamentos bacterianos.

Decorridos 30 dias da microbiolização, as mudas de figueira de cada tratamento foram transplantadas para vasos contendo 2,8kg de solo naturalmente infestado por *M. incognita*. O ensaio seguiu o delineamento completamente ao acaso onde cada tratamento foi composto de seis repetições contendo uma planta/vaso.

#### **Avaliações**

Decorridos cinco meses após o transplante das mudas de figueira, coletou-se a casca dos ramos de cada planta para determinação das enzimas peroxidases e polifenoloxidases (Campos & Silveira, 2003). A seguir, as folhas foram contadas e avaliadas quanto a área foliar (cm<sup>2</sup>) em medidor (LI-COR, modelo LI-3100). Posteriormente determinou-se o teor de clorofila A, B e total no terceiro par de folhas das plantas utilizando-se o medidor Clorofilog® (Falker Automação Agrícola Ltda, Porto Alegre-RS). Subsequentemente, as folhas foram levadas a estufa a 60°C para determinação da massa seca em balança de precisão.

Logo após, as plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos, sendo as raízes lavadas em água corrente e pesadas para determinação da massa fresca e avaliação do número de galhas presentes em cada repetição. A seguir, uma amostra de 250 cm<sup>3</sup>, do solo homogeneizado de cada vaso foi coletada para extração dos nematoides (Jenkins, 1964). Para determinação do fator de reprodução de *M. incognita* nas figueiras, as raízes de cada planta foram processadas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,1% (Hussey & Barker, 1973). A partir de cada suspensão, foi determinado o número total de ovos e juvenis de segundo estágio de *M. incognita* presentes em cada planta para cálculo do fator de reprodução do nematoide (População final/População inicial) (Oostenbrink, 1966). Além disso, amostras compostas de cada tratamento foram coletadas para determinação de macro e micro nutrientes presentes no solo antes e após a conclusão dos experimentos.

Os valores relacionados ao número de galhas

( $\sqrt{x+1}$ ), número de ovos e J2, população final e fator de reprodução dos nematoides, massa fresca da raiz, massa fresca da parte aérea e área foliar, obtidos em cada repetição, foram primeiramente submetidos a ANOVA, sendo as médias de cada tratamento comparadas entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade utilizando-se o programa SAS. (SAS System 9.0, SAS Institute, Cary, NC-USA). Adicionalmente, as variáveis, massa fresca da raiz, massa fresca das folhas, área foliar, atividade da peroxidase e polifenoloxidase e teores de fenóis obtidas em cada ensaio, foram correlacionadas com os respectivos fatores de reprodução de *M. incognita* de cada tratamento utilizando-se o mesmo programa, sendo considerados significativos, os valores de R entre  $0,01 > P < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

Observou-se que sete isolados bacterianos suprimiram a reprodução de *M. incognita* nas mudas de figueira microbiolizadas em relação à testemunha ( $P < 0,05$ ). No entanto, os maiores níveis de biocontrole do nematoide foram obtidos com os isolados F25, F78 e F76, suprimindo de 39% a 49% a reprodução do nematoide (Tabela 1). Uma pequena redução no número de galhas foi observada nas plantas tratadas com os isolados F64, FB60, F08 e F25, no entanto essa redução resultou em menores valores de FR de *M. incognita* apenas para os dois últimos tratamentos. Aumento do peso da massa fresca de raízes foi observado nos tratamentos cujas figueiras foram microbiolizadas com os isolados F64 e F78 (Figura 1). Apesar de ter sido verificado maior número de galhas nas plantas microbiolizadas com o isolado F78, nesse tratamento foi observado redução próxima a 50% na população do nematoide, assim como, redução da concentração de compostos fenólicos e incremento significativo na massa fresca de raízes, concentração de clorofila total e atividade da enzima polifenoloxidase em relação à testemunha (Tabela 2). Complementarmente, observou-se correlação negativa

significativa ( $P < 0,05$ ) entre o fator de reprodução do nematoide, massa fresca da raiz e o teor de clorofila A, B e total apenas nas testemunhas, o que demonstrou a patogenicidade do nematoide sobre a figueira. Apesar de não ter sido observado incremento do peso da massa seca das folhas das figueiras com a microbiolização das plantas com as bactérias, verificou-se redução nos valores dessa variável para a maioria dos tratamentos onde houve supressão do nematoide; com exceção do tratamento com o isolado F08 (Tabela 1), no entanto, não houve correlação negativa entre FR e essa variável. Além disso, observou-se que alguns isolados favoreceram maior exportação de macronutrientes do solo final do experimento em função dos menores valores observados. Nos tratamentos com os isolados F08, F25, F76, F64, F75, F78, FB59, FB60, FB62 e FB68 houve redução de fósforo no solo; e, naqueles tratamentos com os três primeiros isolados, redução também dos níveis de potássio. Já para os micronutrientes, exceto para os isolados F78 e FB39, observou-se que houve redução dos níveis de cobre no solo para os demais tratamentos. Em relação aos níveis de enxofre no solo, houve aumento em todos os tratamentos com as bactérias provenientes de folhelhos pirobetuminosos e com os isolados de figueira F71, F75 e F76. Para os demais elementos, os valores foram semelhantes (dados não apresentados).

## DISCUSSÃO

A redução no fator de reprodução de *M. incognita* com os tratamentos F08 (*Bacillus* sp.), F71 (*Bacillus* sp.), F25 (*Bacillus* sp.), F76 (*Streptomyces* sp.), F78 (*Streptomyces* sp.), FB34 (*Arthrobacter oxydans*) e FB59 (*Pseudomonas denitrificans*) indicam que estes

isolados bacterianos interferem no ciclo de vida do nematoide das galhas em figueira.

O controle de nematoides por rizobactérias pode envolver vários processos, como: parasitismo; produção de enzimas e metabólitos tóxicos que podem atuar como nematicidas e/ou afetar o movimento do nematoide; inibição da eclosão de juvenis dos ovos e interferência no processo de reconhecimento planta-hospedeiro afetando a penetração dos juvenis nas raízes; indução de resistência da planta e/ou produção de substâncias que favoreçam o desenvolvimento saudável da espécie vegetal (Oka et al., 1993; Stirling, 1991; Siddiqui & Mahmood, 1999).

Diversos estudos têm demonstrado a eficiência de bactérias da rizosfera como biocontroladoras por apresentarem atividade nematicida e nematostática, apontando que bactérias como *Bacillus* sp. (Radwan, 2007) e *Streptomyces* sp. (Ruanpanun et al., 2011) produzem substâncias capazes de imobilizar ou matar nematoides.

Outro mecanismo verificado no emprego de rizobactérias é a indução de resistência. Nesse sentido, o aumento na atividade da polifenoloxidase, nas plantas tratadas com os isolados F71 e F78 (Tabela 1), é considerado um mecanismo importante (Conrath et al., 2002) que pode ter contribuído para o biocontrole de *M. incognita* em figueira, corroborando com diversos relatos de indução de resistência a fitopatógenos por *Streptomyces* sp. (Macagnan et al., 2008; Tarkka et al., 2008; Lehr et al., 2008; Conn et al., 2008) e *Bacillus* sp. (Ryu et al., 2004; Ongena et al., 2007). Essas enzimas possuem um papel importante no controle biológico, pois podem interferir no processo de resistência através da oxidação de compostos fenólicos a quinonas, substâncias altamente tóxicas aos patógenos de plantas (Campos & Silveira, 2003).

Tabela 1. Efeito do tratamento de mudas de figueira com rizobactérias sobre parâmetros relacionados a reprodução e controle de *Meloidogyne incognita*. \*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade; \*\*Valores originais transformados em  $\sqrt{x+1}$ ; \*\*\*TSI testemunha em solo naturalmente infestado tratado com solução salina.

Tratamentos bacterianos	Fator de Reprodução	Porcentagem Controle	Número de galhas
TSI***	27,64 a*	-	141,80bc
F75	26,10 ab	5,57	128,50 cd
FB68	25,94 ab	6,15	122,67 cd
FB62	24,68 abc	10,70	124,00 cd
F64	24,46 abc	11,50	98,50 de
FB39	22,59 abc	18,35	140,50 bc
FB60	22,17 abcd	19,79	57,00 f
FB27	22,09 abcd	20,07	152,50 bc
F08	21,94 bcd	20,62	80,00 ef
F71	21,28 bcd	23,01	111,16 cde
FB34	20,53 bcd	25,72	182,00 ab
FB59	19,71 cde	28,69	109,00 cde
F76	16,78 def	39,29	118,67 cd
F78	14,90 ef	46,09	213,60 a
F25	14,15 f	48,08	77,83 ef
CV%	19,54		13,16

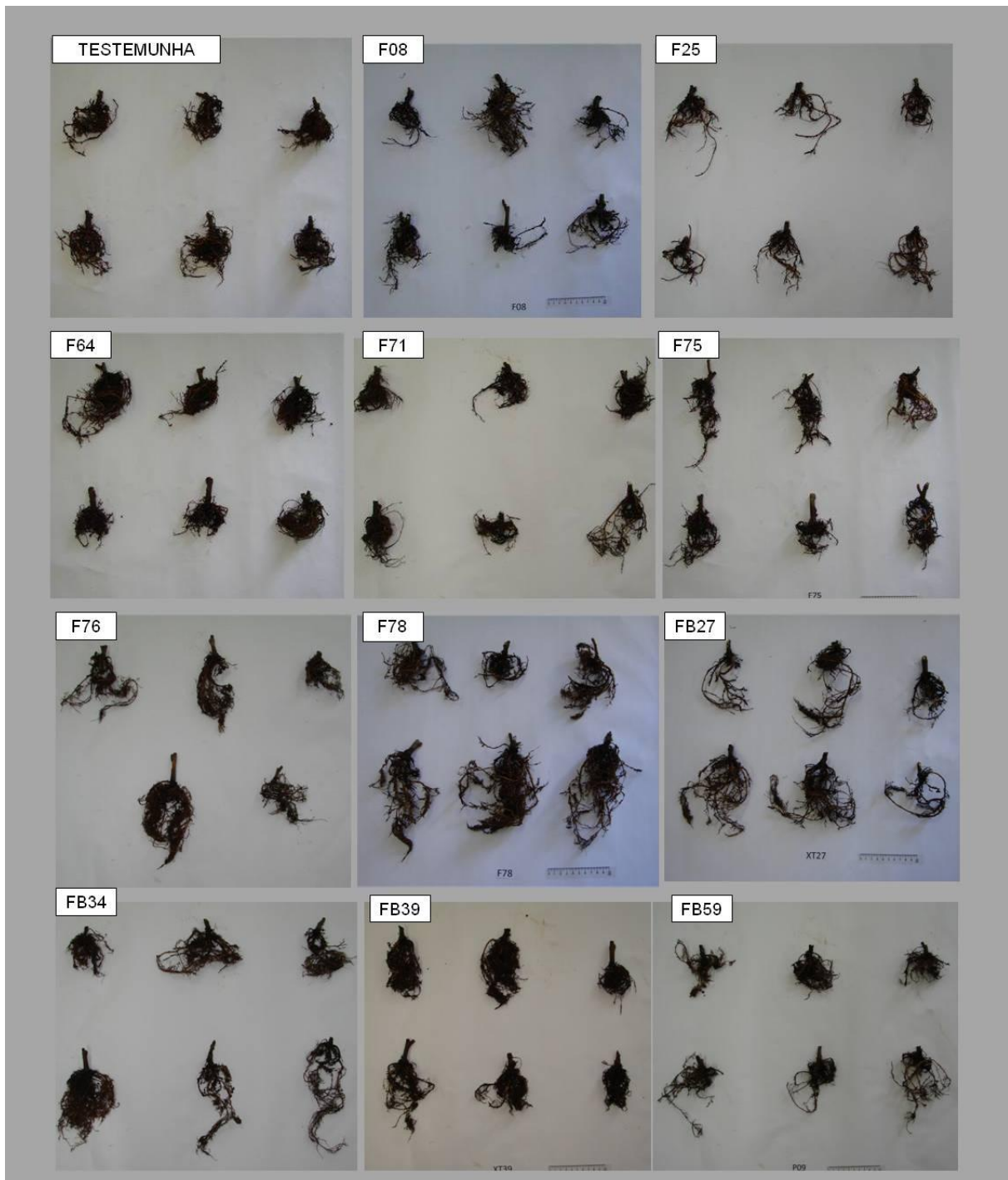


Figura 1. Aspecto das raízes de figueira inoculadas com o nematoide das galhas nos diferentes tratamentos bacterianos. Pelotas/RS, 2013.

Apesar de ter sido verificado menores níveis de fósforo e potássio no solo em alguns tratamentos bacterianos, um aumento significativo no peso da massa fresca de raízes foram detectados apenas naquelas plantas cujas mudas de figueira foram microbiolizadas com as bactérias F64 e F78, demonstrando que essas

bactérias podem ter favorecido maior translocação desses macronutrientes para o desenvolvimento das plantas. No entanto, para massa seca de folhas não foi possível detectar efeito positivo dos tratamentos. Considerando que diversas bactérias presentes na rizosfera possuem a capacidade de converter formas

insolúveis de fósforo em formas disponíveis para as plantas (Kim et al., 1998), a aplicação desses isolados pode favorecer o desenvolvimento vegetal. Ainda, o fato dos menores níveis de enxofre no solo terem sido observados principalmente nos tratamentos com os isolados provenientes de folhelhos pirobetuminosos, é indicativo da atividade dessas bactérias no referido ambiente de origem, uma vez que um dos co-produtos derivados da extração de óleo dessas rochas é o enxofre elementar.

Apesar da supressão do nematoide verificada nas plantas tratadas com rizobactérias, no presente estudo, houve pequena relação entre efeito biocontrolador dos antagonistas e parâmetros relacionados ao desenvolvimento das plantas. Nesse sentido, Abraão e Mazzafera (2001) ressaltam a importância de realizar experimentos utilizando-se vários níveis populacionais de *M. incognita*. Segundo os autores, na maioria dos trabalhos utilizam-se níveis de inoculo muito elevados os quais podem prejudicar a avaliação de aspectos fisiológicos relacionados à resistência de plantas a doença e levar à subestimação do sucesso do controle do patógeno.

É importante também, avaliar o efeito dos tratamentos a longo prazo, em plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, visto que a figueira é uma planta perene e neste trabalho foram avaliadas somente mudas jovens. Assim, novos trabalhos são necessários para avaliar a eficiência dos biocontroladores sob diferentes níveis populacionais de *M. incognita* na cultura da figueira, considerando diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Outro fator a ser considerado, na perspectiva do manejo integrado de pragas, é que o controle de fitonematoides envolve diferentes medidas, assim, a utilização de

biocontroladores não deve ser uma alternativa isolada, mas deve ser estudada na perspectiva de integração a outros métodos. Além disso, para o patossistema avaliado nesse trabalho, não existem alternativas de manejo economicamente viáveis no Brasil. Assim, as reduções observadas no fator de reprodução de *M. incognita*, apesar de alcançarem no máximo 49%, podem, em conjunto com outras técnicas de manejo, representar uma alternativa viável ao produtor.

Entre as estratégias utilizadas para viabilizar o controle biológico, muitas pesquisas têm avaliado a utilização de consórcios microbianos e combinações de isolados, considerando que ambientes naturalmente supressivos sejam resultados de misturas de antagonistas (Siddiqui & Shaukat, 2003; Roberts et al., 2005). Nesse sentido, Corrêa et al. (2012) avaliando o efeito de combinações de três isolados bacterianos sobre reprodução de *M. incognita* e a produção de feijão, constataram a importância das combinações piramidando diferentes mecanismos de atuação para proporcionar maiores níveis de controle biológico de *M. incognita* e crescimento vegetal.

Outras pesquisas apontam também, o potencial de resíduos agrícolas como condicionadores do solo e inibidores de *M. incognita* em figueiras (Formentini, 2009; Santos, 2010). A incorporação de resíduos orgânicos como manejo do solo é importante, pois melhora a estrutura e a fertilidade do solo, além de apresentar potencial para o controle de fitonematoides. Com isso, ocorre a decomposição da matéria orgânica incorporada ao solo e favorece a proliferação de inimigos naturais dos nematoides, tais quais os fungos, bactérias, e nematoides predadores (Culbreath et al., 1986; Hallmann et al., 1999).

Tabela 2. Efeito do tratamento de mudas de figueira com rizobactérias sobre parâmetros relacionados ao desenvolvimento das plantas inoculadas com *Meloidogyne incognita* e de variáveis bioquímicas relacionadas a esses tratamentos. MFR: Massa fresca da raiz, NF: número de folhas, MSF: massa seca das folhas, AF: área foliar, CT: clorofila total, PO: peroxidase, PFO: polifenoloxidase, FA: Fenóis extraíveis em água; \*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade; \*\*TSI testemunha em solo naturalmente infestado tratado com solução salina.

Trat.	MFR	MSF	CT	PO	PFO	FA
				(UE.min <sup>-1</sup> .mg <sup>-1</sup> de tecido)		(g/100g)
F64	14,72 a*	1,24 ab	18,45 abc	0,137 cde	0,235 bc	2,52 abcde
F78	13,29 a	0,75 e	20,84 a	0,199 a	0,265 ab	2,20 de
TSI**	11,74 b	1,24 ab	15,89 cde	0,167 abc	0,200 cd	2,70 abc
FB39	11,24 bc	1,00 bcd	15,22 e	0,167 abc	0,181 d	2,80 ab
F76	10,69 c	0,97 cde	19,57 ab	0,171 abc	0,166 d	2,38 bcde
F75	10,65 c	0,75 e	19,17 ab	0,140 bcde	0,228 bc	2,18 e
FB27	10,63 c	1,36 a	17,86 bcde	0,153 bcd	0,168 d	2,52 abcde
FB62	10,17 c	1,17 abcd	17,21 bcde	0,117 de	0,235 bc	2,68 abc
FB68	9,96 c	1,31 a	18,19 bcd	0,183 ab	0,201 cd	2,49 abcde
F71	9,86 cd	1,04 bcd	17,27 bcde	0,159 abcd	0,281 a	2,27 cde
F08	9,81 cd	1,20 abc	17,74 bcde	0,104 e	0,175 d	2,38 bcde
FB34	9,43 cd	0,95 de	18,46 abc	0,161 abcd	0,170 d	2,65 abc
FB59	7,665 de	1,00 bcd	16,13 cde	0,152 bcd	0,195 cd	2,60 abcd
FB60	6,276 e	1,21 abc	15,56 de	0,127 cde	0,200 cd	2,83 a
F25	5,94 e	1,05 bcd	18,97 ab	0,120 cd	0,199 cd	2,30 cde
CV%	18,48	17,10	11,25	22,44	15,35	12,58

Assim a combinação de isolados e a compatibilidade dos isolados com outras técnicas de manejo, como a incorporação de matéria orgânica, deve ser avaliada em ensaios futuros com os agentes de controle biológico selecionados nesse trabalho. Além disso, é importante também avaliar a utilização combinada de bactérias e porta-enxertos de figueira tolerantes ou resistentes ao nematoide das galhas, visto que o uso de agentes para o controle biológico dos fitonematoides é apenas uma das etapas do manejo integrado das doenças, e, o controle de *M. incognita* é ponto chave para a cultura da figueira.

## REFERÊNCIAS

- Abraão, M. M. & P. Mazzafera.** 2001. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. Bragança [online]. 60:19-26.
- Abrantes, I. M., M.C. Vieira Dos Santos, L.P.M. Da Conceição, M.S.N. De A. Santos & N. Vovlas.** 2008. Root-knot and other plant-parasitic nematodes associated with fig trees in Portugal. *Nematologia Mediterranea.*, 36:131-136.
- AGROFIT:** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2003 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: jul. 2013.
- Alice Web.** Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Disponível em: <<http://aliceweb2.mdic.gov.br/menu/index/item/aliceweb>>. Acesso em: 10 maio 2013.
- Alves, G. C. S., J.M. Santos, P.L.M. Soares, F.G. Jesus, E.J. Almeida & R.T. Thuler.** 2011. Avaliação *in vitro* do efeito de rizobactérias sobre *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zaei*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 78:557-564.
- Ashoub, A. H. & M.T. Amara.** 2010. Biocontrol activity of some bacterial genera against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Journal of American Science*, 6:321-328.
- Bueno, P. R. R., F.A.P. Gonçalves & F. Ascêncio.** 2006 Avaliação da distribuição espacial e de níveis de infestação de nematoides na área de figueira (*Ficus carica*) do campo experimental "Coração da terra" FAEF Garça – SP. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia.*
- Campos, A. D & E.M.L. Silveira.** 2003. Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenoloxidase em plantas. EMBRAPA: Comunicado Técnico 87., 3p.
- Carneiro, R. M. D. G. & M.R.A. Almeida.** 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides das galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, 25:35-44.
- Conn, V. M., A.R. Walker & C.M. Franco.** 2008. Endophytic actinobacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21:208-18.
- Conrath, U., C.M. Pieterse & M.B. Mauch.** 2002. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Science*, 7:210-216.
- Corrêa, B. O., A.B. Moura, C.B. Gomes, L. Somavilla, D.J.A. Rocha & D.I. Antunes.** 2012. Potential of seed microbiolization with rhizobacteria to control of root-knot nematode in common bean. *Nematropica*, 42:343-350.
- Culbreath, A.K., R. Rodriguez-Kábana & G. Morgan-Jones** 1986. Chitin and *Paecilomyces lilacinus* for control of *Meloidogyne arenaria*. *Nematropica*, 16:153-166.
- EI-Borai, F. & L.W. Duncan.** 2005. Nematose parasites of subtropical and tropical fruit tree crops. In: LUC, M.; R.A. SIKORA, J. BRIEDGE. *Plant parasites nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 2. ed. CAB International, 871p.
- Fabry, C. F. S., L.G. Freitas, W.S. Neves, M.M. Coutinho, M.R. Tótola, J.R. Oliveira, R.D. Giaretta & S. Ferraz.** 2007. Obtenção de bactérias para a o biocontrole de *Meloidogyne javanica* por meio de aquecimento de solo e tratamento com filtrado de raízes de plantas antagonistas a fitonematoides. *Fitopatologia Brasileira*, 32:79-82.
- FAO - Fod and agriculture organization of the united nations.** Figs Production. **Statistical Databases.** Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 15 jul. 2013.
- Formentini, H. M.** 2009. Manipueira no controle de *Meloidogyne incognita* e no rendimento da figueira (*Ficus carica* L.) cv. Roxo de Valinhos no oeste paranaense. Dissertação (Mestrado em Agronomia) UNIOESTE/AGRONOMIA,.
- Freitas, L. G., W.S. Neves, C.F.S. Fabry, B.M. Marra, M.M. Coutinho, R.S. Romeiro & S. Ferraz.** 2005. Isolamento e seleção de rizobactérias para controle de nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura do tomateiro. *Nematologia Brasileira*, 29:215-220.
- Gadd, G. M.** 1999. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in Microbial Physiology*, 41:47-92,.
- Gomes, C. B., L. Somavilla, R.M.D.G. Carneiro, A.G.D. Zecca, F.A. Costa & I. Lima-Medina.** 2009. Monitoramento do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em figueira (*Ficus carica*) no Rio grande do Sul. Pelotas-RS: Embrapa Clima Temperado, 18p. (Boletim Pesquisas e Desenvolvimento (n.86).
- Gorbushina, A. A.** 2007. Life on the rocks-minireview. *Environmental Microbiology*, 9:1613-1631.
- Hallmann, J., R. Rodríguez-Kábana & J.W. Kloepper.** 1999. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. *Soil Biology and Biochemistry*, 31:551-560.
- Hirsch, P., U. Mevs, R. Kroppenstedt, P. Schumann & E. Stackebrandt.** 2004. Cryptoendolithic actinomycetes from Antarctic sandstone rock samples: *Micromonospora endolithica* sp. nov. and two isolates related to *Micromonospora coerulea* Jensen 1932. *Systematic and Applied Microbiology*, 27:166-174.
- Hussey, R. S. & K.R. Barker.** 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, St Paul, 57:1025-1028.
- IBGE.** 2013. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema de Recuperação automática SIDRA. Disponível em:

- <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?z=t&o=11&i=P> 2013>.
- Jenkins, W. R.** 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48:692.
- Kado, C. I. & M.G. Heskett.** 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60:969-976.
- Kim, K. Y., D. Jordan & G.A. McDonald.** 1998. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular – arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility of Soils*, 26:79-87.
- Lehr, N. A., S.D. Schrey, R. Hampp & M.T. Tarkka.** 2008. Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce. *New Phytologist*, 177:965-976.
- Leonel, S. & A. Figueira.** 2008. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30:577-856.
- Lima-Medina, I. L., C.B. Gomes, C.E. Rossi & R.M.D.G. Carneiro.** 2006. Caracterização e identificação de populações de nematoides de galhas provenientes de figueiras (*Ficus carica* L.) do Rio Grande do Sul e de São Paulo. *Nematologia Brasileira*, 30:179-187.
- Lima-Medina, I., L. Somavilla, R.M.D.G. Carneiro & C.B. Gomes.** 2013. Espécies de *Meloidogyne* em figueira (*Ficus carica*) e em plantas infestantes. *Nematologica*, 43: 56-62.
- Macagnan, D., R.S. Romeiro, M.C.B. Pereira, R. Lanna-Filho, D.S. Batista & W.V. Pomella.** 2008. Atividade de enzimas associadas ao estado de indução em mudas de cacaueiro expostas a dois actinomicetos residentes de filoplano. *Summa Phytopathologica*, 34:34-37.
- Machado, V., D.L. Berlitz, A.T.S. Matsumura, R.C.M. Santin, A. Guimarães, M.E. Da Silva & L.M. Fiúza.** 2012. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematoides. *Oecologia Australis*, 16:165-182.
- Mai, W. F. & P.G. Mullin.** 1996. *Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera*. 5.ed. Nova York, Cornell University Press Ithaca, 277p.
- Medeiros, A. R. M.** 2002. Figueira (*Ficus carica* L.) do plantio ao processamento. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 16p. (Embrapa-CPACT. Circular Técnica, n.35).
- Ongena, M., E. Jourdan, A. Adam, M. Paquot, A. Brans, B. Joris, J.L. Arpigny & P. Thonart.** 2007. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. *Environmental Microbiology*, 9:1084-1090.
- Oka, Y., I. Chet & Y. Spiegel.** 1993. Control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. *Biological Science and Technology*, 3:115-126.
- Oostenbrink, M.** 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Van De landbouwhogeschool Te Wageningen, Nederland*, 66:1-46.
- Radwan, M.A.** 2007. Bioactivity of commercial products of *Bacillus thuringiensis* on *Meloidogyne incognita* infecting tomato. *Indian Journal of Nematology*, 37:30-33.
- Richardson, A. E.** 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, Collingwood, 28:897-906.
- Roberts, D. P., S.M. Lohrke, S.L.F. Meyer, J.S. Buyer, J.H. Bowers, C.J. Baker, W. Li, J.T. Souza, J.A. Lewis & S. Chung.** 2005. Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. *Crop Protection*, 24:141-155.
- Romeiro, R. S.** 2007. *Controle Biológico de Doenças de Plantas - Fundamentos*. Viçosa Ed. UFV, 269p.
- Ruanpanun, P., H. Laatsch, N. Tangchitsomkid & S. Lumyong.** 2011. Nematicidal activity of fervenulin isolated from a nematicidal actinomycete, *Streptomyces* sp. CMU-MH021, on *Meloidogyne incognita*. *World J Microbiol Biotechnol*, 27:1373-1380.
- Ryu, C.M., M.A. Farag, C.H. Hu, M.S. Reddy, J.W. Kloepper & P.W. Paré.** 2004. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 134:1017–1026.
- Santos, A. V.** 2010. Potencial de uso da cultura da mamona e de seus subprodutos no manejo de áreas infestadas pelo nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) e seus efeitos sobre outros nematoides. 58f. – Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- Siddiqui, I. A. & S.S. Shaukat.** 2003. Combination of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pochonia chlamydosporia* for control of root-knot infecting fungi in tomato. *Journal of Phytopathology*, Berlin, 151:215-222.
- Siddiqui, Z. A. & I. Mahmood.** 1999. Role of rhizobacteria in the management of plant-parasitic nematodes: A review. *Bioresource Technology*, 69:167-179.
- Sikora, R.A.** 1988. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. *Medicine Faculteit Landbouwwetenschappelijke Rijksuniversiteit Gent*, 53867-878.
- Stirling, G. R.** 1991. *Biological control of plant-parasitic nematodes*. Wallingford, UK: CAB International, 282p.
- Tarkka, M. T. N.A. Lehr, R. Hampp & S.D. Schrey.** 2008. Plant behavior upon contact with Streptomycetes. *Plant Signaling & Behavior*, 3917-919.
- Unl Nematology Lab.** 2012. Interactive Diagnostic Key to Plant Parasitic, Freelifving and Predaceous Nematodes. Disponível em: <http://nematode.unl.edu/key/nemakey.htm>.
- Vessey, J. K.** 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255:571-586.
- Wille, C.N.** 2013. Potencial de bactérias isoladas de raízes de figueira e folhelhos pirobetuminosos no controle de *Meloidogyne incognita* em *Ficus carica* cv Roxo de Valinhos. Tese. (Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitossanidade) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 104f.
- Zuckerman, B. M. & H.B. Jasson.** 1984. Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host/prey recognition. *Annual Review Phytopathology*, 22:95-113.