

MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES DE FEIJÃO COM BACILLUS SPP. NO CONTROLE DE MELOIDOGYNE JAVANICA

Autores: BRUNA HANIELLE CARNEIRO DOS SANTOS, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, ADELICA APARECIDA XAVIER, JOSE AUGUSTO SANTOS NETO, EDSON HIYDU MIZOBUTSI, RAYANE CARNEIRO DOS SANTOS, MARIA JOSIANE MARTINS

Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem grande importância socioeconômica no Brasil, sendo considerado um dos principais constituintes da dieta do brasileiro por ser uma excelente fonte proteica (Soares *et al.*, 2006).

Dentre os problemas fitossanitários da cultura, *Meloidogyne javanica* é considerado como um dos principais responsáveis pela baixa produtividade, cujas as perdas na produção devido ao parasitismo de *M. incognita* e *M. javanica* podem chegar até 90%.

A microbiolização de sementes de diversas culturas com rizobactérias (PGPRs), especialmente com espécies de *Bacillus* tem apresentado resultados positivos no controle de vários patógenos de solo, incluindo o de nematoides das galhas (Ludwig *et al.*, 2013).

Vários mecanismos das rizobactérias estão envolvidos no controle de nematoides como alteração dos exsudatos das raízes com consequente limitação na penetração de nematoides nas raízes (Lian *et al.*, 2007) e redução da eclosão de juvenis (Campos *et al.*, 2006), a produção de enzimas e substâncias tóxicas, a indução de resistência sistêmica da planta hospedeira (Oostendorp e Sikora, 1990).

Alguns trabalhos têm demonstrado que a combinação de rizobactérias com fertilizantes nitrogenados proporcionam aumento no desenvolvimento e na produção de culturas (Khan *et al.*, 2013).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a microbiolização de sementes de feijoeiro com cinco isolados de rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica*.

Material e métodos

Multiplicação e preparo das suspensões contendo rizobactérias para inoculação das sementes de feijão

Para o preparo das suspensões bacterianas, as bactérias foram cultivadas em placas de Petri contendo meio TSA (trypticase soy agar), por um período de 48 horas em temperatura de 28°C. As suspensões foram preparadas em solução salina a 0,85% e calibradas em espectrofotômetro para densidade ótica OD540= 0,5 de absorbância (aproximadamente 108 UFC). Esta quantificação foi determinada pela contagem da concentração de bactérias no meio, pelo método de diluição seriada e contagem em placas em meio TSA.

O inoculante foi preparado adicionando-se 15 mL da suspensão de cada isolado em sacos de polietileno, contendo 35 g de turfa (previamente esterilizada). Ao inoculante acrescentou-se também uma solução açucarada a 10% para melhorar a fixação do inoculante às sementes (Xavier *et al.*, 2011).



Para a inoculação das sementes, amostra de 100 g de sementes de feijão comum do grupo carioca cultivar Pérola foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio a 1%, por dez minutos. Em seguida foram lavadas, por quatro vezes em água destilada estéril e dispostas sobre papel absorvente para secar em câmara de fluxo laminar, por duas horas. Logo após, as sementes foram inoculadas e mantidas em temperatura ambiente por 24 horas.

Efeito da aplicação de rizobactérias para o controle de *Meloidogyne javanica* em feijão comum.

Foram avaliados neste ensaio os seguintes tratamentos: 5 doses de nitrogênio (0, 25, 50, 100 e 200 kg.ha⁻¹) na forma de uréia e 5 isolados de rizobactérias (*B. pumilus*-1, *B. subtilis*-34, *Bacillus* sp.-36, *B. pumilus*-60 e *B. pumilus*-76). O ensaio foi montado em casa de vegetação com delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 5x5+1, sendo 5 doses de N e 5 isolados inoculados em sementes de feijão + 1 testemunha (sementes não inoculadas cultivadas em solo infestado com *M. javanica*). O ensaio teve 10 repetições. A parcela experimental constou de um vaso contendo uma planta de feijoeiro.

O experimento foi conduzido em vasos com capacidade de 4 L, contendo solo arenoso Neossolo flúvico. Vinte dias após o plantio inoculou-se 3 mL de uma suspensão aquosa contendo 3.000 ovos de *M. javanica* em três orifícios ao redor da planta. Os tratamentos correspondentes às doses de nitrogênio foram aplicados em solução, aos 15, 30 e 45 dias após a germinação das sementes.

Decorridos 60 dias da inoculação de *M. javanica* foram avaliadas as variáveis nematológicas: número de galhas, número de massas de ovos, número de ovos por sistema radicular e número de J2 no solo.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias das bactérias comparadas por teste de Scott-Knott a 5%. As doses de nitrogênio foram ajustadas a modelos de regressão pelo programa de estatística SISVAR (Ferreira, 2000).

Resultados e discussão

A análise de regressão mostrou uma resposta linear para os tratamentos com a inoculação de isolados de rizobactérias, em função das doses de uréia para as variáveis massas de ovos e número de galhas por raiz de feijão (Figura 1 e 2).

Os isolados *B. pumillus*-1, *B. subtilis*-34, *B. sp*-36 e *B. pumillus*-76 proporcionaram redução linear do número de ovos com o aumento das doses de N (Figura 1). O mesmo efeito foi observado para os isolados *B. pumillus*-1, *Bacillus* sp-36 e *B. pumillus*-76 em relação ao número de galhas por raiz (Figura 2).

O efeito supressivo da uréia sobre os fitonematoides tem sido atribuído à liberação de nitrogênio amoniacal no solo, tóxico ao nematoide. Segundo Silva et al. (2006), o gás amônia (NH₃) liberado a partir da transformação do amônio (NH₄) no solo, pode afetar a população de nematoides de maneira seletiva. Spiegel et al. (1987) relatam que a amônia age como um agente plasmolizante de juvenis de segundo estágio, infectivos de *Meloidogyne*.

Resultados obtidos por Sudirman e Webster (1995) indicaram que certas concentrações de amônia, diminuem a eclosão de juvenis atuando diretamente no controle de nematoides por este ser um composto fitotóxico. Segundo os autores são necessárias altas doses de nitrogênio para um controle satisfatório de nematoides, no entanto o acúmulo de nitrato e nitrogênio amoniacal ao solo pode ser fitotóxico (Huebner et al., 1983).



Alguns trabalhos têm relatado o efeito benéfico da associação de rizobactérias e doses de nitrogênio. Sharifi (2012) verificou efeito positivo da associação entre doses de nitrogênio e isolados de rizobactérias inoculadas em sementes de cártamo (*Carthamus tinctorius L.*). De acordo com os autores maior aumento no crescimento da cultura, na matéria seca e no rendimento de grãos foram obtidos quando as sementes foram inoculadas com isolado de *Pseudomonas* estirpe 186 na dose de 180 kg.ha⁻¹.

Na dose recomendada para a cultura do feijoeiro, de 50 kg.ha⁻¹, os isolados *B. pumilus*-60, *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*-1 apresentaram resultados satisfatórios quanto à redução do número de massas de ovos e galhas de *M. javanica*, demonstrando potencial no controle de nematoides. Nas maiores doses, o mesmo efeito foi observado por estes isolados, no entanto, o custo de produção poderia se tornar antieconômico.

Desta forma, pode-se dizer que existe potencial para a utilização do controle biológico por meio da microbiolização das sementes com rizobactérias e com combinações de adubação nitrogenada, principalmente quando se considera o plantio de cultivares com pouca ou nenhuma resistência a *M. javanica*, além das limitações associadas ao uso do controle químico, que são caros e perigosos.

Conclusão/Conclusões/Considerações finais

Na ausência de uréia (Dose 0), os isolados *Bacillus pumilus*-60 e *Bacillus pumilus*-76 reduzem o número de massas de ovos e o número de galhas de *Meloidogyne javanica* em feijoeiro. Os isolados *Bacillus pumilus*-60, *Bacillus subtilis*-34 e *Bacillus pumilus*-1, em combinação com a dose de 50 kg.ha⁻¹, promovem redução do número de massa de ovos de *M. javanica*. Os isolados *Bacillus pumilus*-76 e *Bacillus pumilus*-1, em combinação com a dose de 50 kg.ha⁻¹, promovem redução do número de galhas de *M. javanica*.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG pela concessão da Bolsa de Incentivo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico – BIPDT.

Referências bibliográficas

CAMPOS, H. D., V. P., CAMPOS, & J. L. COIMBRA. 2006. Efeito de exsudato radicular de *Brachiaria decumbens* e do sorgoleone de *Sorghum bicolor* no desenvolvimento de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 30:59-65.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvarpara Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA 55 SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, v. 45, 2000, São Carlos. *Anais...* São Carlos: UFSCAR, p. 255-258.

HUEBNER, R.A., RODRIGUEZ-KABANA, R., PATTERNSON, R.M. 1983. Hemicellulosic waste and urea for control of plant parasitic nematodes: Effect on soil enzyme activities. *Nematropica* 13: 37-54.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B & GOMES, C. B. 2013. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. *Tropical Plant Pathology* 38: 264-268.

KHAN, H. Z.; NADEEM, M.; IQBAL, S.; AKBAR, N.; IQBAL, A. 2013. Response of spring maize (*Zea mays L.*) to integrated nitrogen management. *Crop & Environment* 4: 6-10.

OOSTENDORP, M., and R. A. SIKORA. 1990. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Revue Nématologie* 13:269-274.

SHARIFI, R. S. 2012. Effects of nitrogen rates and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on grain yield and some growth indices in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4: 949-954.

SILVA, V.N. et al. 2006. Co-inoculação de sementes de caupi com *Bradyrhizobium* e *Paenibacillus* e sua eficiência na absorção de cálcio, ferro e fósforo pela planta. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 36: 95-99.

SOARES, A. L. L.; FERREIRA, P. A. A.; PEREIRA, J. P.A.R.; VALE, H. M.M, LIMA, A. S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. 2006. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em perdões (MG). II – feijoeiro. *R. Bras. Ci. Solo*, 30: 803-811.

SUDIRMAN, N.A.; WEBSTER, J.M. 1995. Effect of ammonium ions on egg hatching and second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in axenic tomato root culture. *Journal of Nematology*, Gainesville 27: 346-3

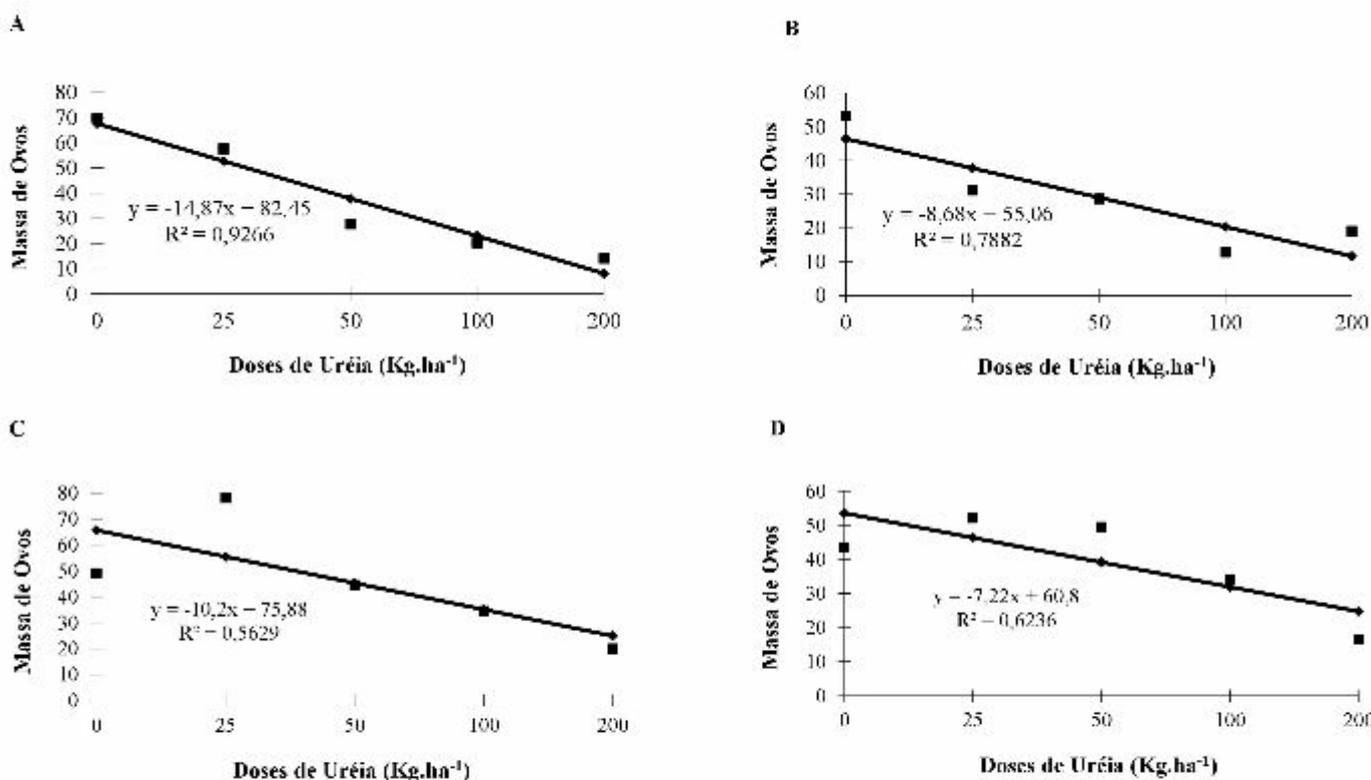
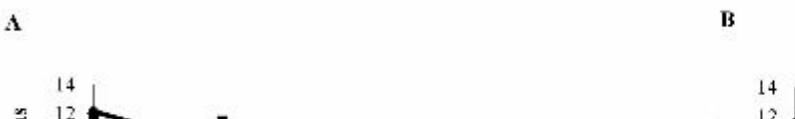


Figura 1 Efeito da microbiolização de sementes de feijoeiro com isolados de *Bacillus* spp. e doses de uréia quanto ao número de massas de ovos de *Meloidogyne javanica* por raiz de feijoeiro. (A) *Bacillus pumillus*-1; (B) *Bacillus subtilis*-34; (C) *Bacillus* sp-36; (D) *Bacillus pumillus*-76.



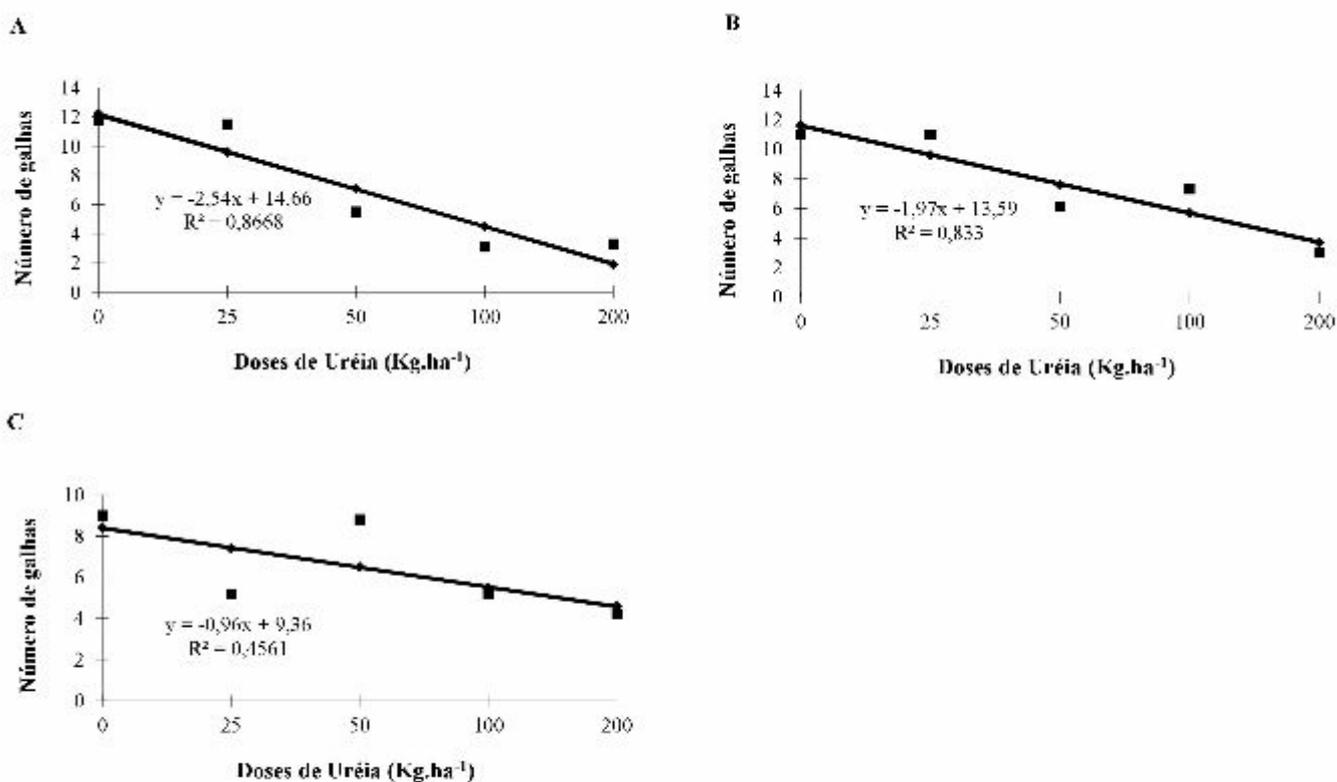


Figura 2 Efeito da microbiolização de sementes de feijoeiro com isolados de *Bacillus* spp. e doses de uréia quanto ao número de galhas de *M. javanica* por raiz de feijoeiro. (A) *Bacillus pumillus*-1; (B) *Bacillus* sp-36; (C) *Bacillus pumillus*-76.