

**PRÉ-SELEÇÃO *IN VITRO* DE ISOLADOS BACTERIANOS PARA USO NO
BIOCONTROLE DE *Meloidogyne graminicola*, NEMATÓIDE DAS
GALHAS DO ARROZ IRRIGADO.**

Santos, A.V¹; Zanatta, Z.G.C.N²; Lopez, M.C.L.²; Gomes, C.B² ¹Aluno de graduação FAEM/UFPel, Campus Universitário, s/nº . C.P. 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900, ²Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, Pelotas, RS, CEP 96001-970. E-mail: avieira faem@ufpel.tche.br

No Brasil cerca de 1,3 milhões de ha são cultivados anualmente com arroz irrigado (NEDEL., *et al*, 1998), visto que o estado do Rio Grande do Sul possui cerca de 950 mil há sendo responsável por 45% da produção nacional. Dentre os inúmeros patógenos que atacam esta cultura, o nematóide-das- galhas *Meloidogyne graminicola* (GOLDEN e BIRCHFIELD, 1965) é considerado como uma das espécies que apresentam maior potencial de dano econômico (SORIANO e REVERSAT, 2003), acarretando perdas de 20 a 90% da produção (PROT e MATIAS,1995). Esforços têm sido concentrados na integração de agentes de controle biológico de nematóides em todo o mundo, notando que, o controle químico geralmente é pouco efetivo, apresentando custos elevados, podendo deixar resíduos nos alimentos, prejudicando a saúde e o meio ambiente (CAMPOS *et al*. 1998). O controle biológico de fitonematóides por meio de bactérias está diretamente associado à produção de compostos tóxicos, alteração dos exudatos radiculares ou por indução de resistência na planta hospedeira. O efeito inibitório (antibiose) de um organismo sobre outro se deve à produção de substâncias tóxicas. Estes compostos são denominados antibióticos e são substâncias orgânicas produzidas por microorganismos que em concentrações baixas, são deletérias ao crescimento ou atividade metabólica de outros microorganismos (BAKER e COOK,1974).

Por esta razão, teve-se por objetivo neste trabalho testar o potencial biocontrolador de 23 isolados bacterianos de diferentes habitats sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *M. graminicola* provenientes de arroz irrigado.

Inicialmente foi obtida uma suspensão de ovos de *M. graminicola* conforme o método de HUSSEY e BARKER (1973), a partir de raízes de arroz BR 410, infectadas com o nematóide. A seguir, a suspensão foi incubada em funil de BAERMANN (1977) a 25°C, de onde foram obtidos os J2 de *M. graminicola* com 24h de idade para montagem do ensaio.Os isolados bacterianos foram repicados individualmente em tubos de ensaio contendo meio 523 de KADO e HESKETT (1970), sendo mantidas a 28°C por 72 horas. As suspensões bacterianas foram preparadas em solução salina 0,85% e ajustadas para OD₅₄₀= 0,50. O bioensaio foi montado em placas de Elisa e cada tratamento consistiu de um isolado bacteriano com três repetições, sendo cada repetição composta de um orifício da placa (ARDUIM *et al* 2005). Cada orifício foi previamente desinfetado com álcool 70% e preenchido com 50 µl de uma suspensão contendo 50 J2 de

nematóide. Logo após aplicou-se 50 µl de cada isolado bacteriano em cada orifício. Posteriormente as placas foram vedadas, envoltas por papel alumínio (simulando condições de solo), etiquetadas e encubadas em BOD a 25 °C por 48h. A determinação da mortalidade foi realizada aplicando 10 µl de uma solução de NaOH 0,1% (CHEN e DICKSON, 2000), nas células das placas de Elisa, para logo proceder-se a contagem do número de J2 mortos e determinação de porcentagem de mortalidade. As médias de cada tratamento foram transformadas em arc sen raiz quadrada de $x/100$ e submetidos a teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Considerando-se que um bom antagonista deve apresentar pelo menos 95% de eficiência *in vitro*, apenas o isolado 11655 apresentou uma alta porcentagem (96%) de mortalidade dos J2 de *M. graminicola* (Tabela 1). Embora com menor atividade nematicida, os isolados 1166 e 1030 apresentaram 72 e 63% de mortalidade respectivamente.

Tabela 1: Porcentagem de mortalidade do J2 de *M. graminicola*, submetidos a 23 isolados bacterianos.

Isolados bacterianos	Mortalidade (%)
11655	96 A
1166	71 B
1030	63 B
501	37 C
5100	26 CD
505	24 CD
1016	23 CD
1064	23 CDE
1165	18 CDE
1061	17 CDE
1160	17 CDE
500	17 CDE
1033	16 CDE
1047	13 CDE
10040	13 CDE
10030	12 DE
1011	10 DE
503	8 DE
1020	6 DE
1006	6 DE
10020	6 DE
10010	5 DE
1164	3 E
CV%	34,76

Os isolados bacterianos demonstraram eficiência na mortalidade de J2 de *M. graminicola* o que pode ser atribuído à ação de algum metabolito tóxico pelo

antagonista. O método descrito acima possibilitou uma rápida e simples seleção de três isolados promissores dentre os 23. Esta técnica, aliada ao teste de eclosão, pode ser uma excelente ferramenta para pré-seleção de bactérias antagonistas para o patossistema estudado, em função do longo período necessário para os testes realizados "in vivo".

Referências Bibliográficas:

- ARDUIM, G.S.; GOMES, C.B.; MOURA, A.B. Effect of rhizobacteria on the hatching and mortality of *Meloidogyne incognita* juveniles from fig plant. XXXVII International Congresso f Nematology-ONTA. Viña del Mar, Chile, 2005.p.85.
- BACKER, K. F.; COOK, R.J. Biological control of plant pathogens. São Francisco: W.H.Freeman, 1974.433p.
- BAERMANN, G. Eine einfache Methode Zur Auffindung von Ankvlostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. *Tijdschr. Ned.-Indie*, 57:131-137, 1917.
- CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. A technique for determining live second-stage juveniles of heterodera glycine. **Journal of Nematology**, v.32,p.117-121,2000.
- GOLDEN, A. M.; BIRCHFIELD, W. *Meloidogyne graminicola* (Heteroderidae), a new species of root-knot nematode from grass. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v.32,p.228-231,1965
- KADO, C. I., HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, St. Paul, v.60, p.24-30, 1980.
- SORIANO, I.R.S.; REVERSAT, G. Management of *Meloidogyne graminicola* and yield of upland rice in South-Luzon, Philippines. **Nematology**, v.5,n.6,p.879-884,2003.
- PROT, J.C.; MATIAS, D. Effects of water regime on the distribution of *Meloidogyne graminicola* and other root parasitic nematodes in a rice field toposequence and pathogenicity of *M. graminicola* on rice cultivar UPLR15. In: STEFFEN, R.B. **Caraterização, controle alternativo e reprodução de *Meloidogyne graminicola* em cultivares de arroz irrigado submetidos a diferentes regimes de umidade**. 2007.96p.(Dissertação de Mestrado) Universidade de Santa Maria, 2007.
- NEDEL, J. L.; ASSIS, F. N; Carmona, P. S. A planta de arroz: Morfologia e Fisiologia. In: Peske, S. T.; Nedel, J.L. Barros, ^a C. S. ^a Produção de arroz irrigado. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1998, 659 p.
- HUSSEY, R.S. & BARKER, K. R. (1973). Comparison of methods of collectting inocula of *Meloidogyne spp.* including a new technique. *Pl. Dis. Repr* **57**, 1025-1028
- CAMPOS, V.P.; SOUZA, J. T.; SOUZA, R.M. Controle de fitonematóide por meio de bactérias. Revisão ANUAL DE Patologia de Plantas, p. 285-327,1998.