

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): JOÃO PAULO DE SOUZA SILVA, LUCAS VINÍCIUS DE SOUZA CANGUSSÚ, ADELICA APARECIDA XAVIER, LIDIANE MAGALHÃES MADUREIRA, PAULO VICTOR MAGALHÃES PACHECO, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, GLEIKA LARISSA OLIVEIRA DORASIO DE SOUZA

Compatibilidade de rizobactérias e fungicida no tratamento de sementes de tomateiro

Introdução

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*L) é uma cultura de grande importância econômica, apresenta alta suscetibilidade a diversas doenças durante seu cultivo, entre as quais o tombamento de plântulas, também chamado *Damping-off*; e galhas causadas por nematoides do gênero *Meloidogyne*.

Neergaard (1979) relata a importância do tratamento de sementes como medida eficiente de controle de doenças de plantas, sendo suas principais funções a proteção da semente e da plântula contra patógenos causadores de apodrecimento e de tombamento. O tratamento de sementes evita a disseminação e impede o início de uma epidemia no campo (Dhingra et al., 1980).

Tradicionalmente, para o controle do tombamento de plântulas, os produtores utilizam fungicidas protetores e fazem a desinfestação química do substrato de crescimento das plantas (Ben-Yephet et al., 1999; Georgakopoulos et al., 2002). Todavia, o elevado custo dessas práticas, associado ao surgimento de patógenos resistentes aos produtos químicos comumente empregados torna essencial o desenvolvimento de técnicas alternativas de controle.

Sabe-se que as rizobactérias possuem a capacidade de influenciar benéficamente a promoção de crescimento das plantas (Martínez-Viveiros et al. 2010), assim a seleção desses organismos é uma alternativa para melhorar aspectos de cultivo, como produção de mudas provenientes de sementes, macro e micropropagação e aumento de produtividade (Mariano et al. 2004) que pode ser proporcionado pela capacidade de algumas terem habilidade na produção de auxinas que estimulam o crescimento das raízes (Bloemberg e Lugtenberg, 2001).

O uso de rizobactérias, seja diretamente como promotoras de crescimento, seja como agentes de controle biológico de fitopatógenos, é considerado uma excelente alternativa para a redução ou substituição do uso de produtos químicos sintéticos, na produção de alimentos (Freitas & Aguilar-Vildoso, 2004).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento de sementes de tomateiro com fungicida e rizobactérias sobre a colonização de raízes emitidas de tais sementes.

Material e Métodos

A. Tratamento das sementes de tomateiro com rizobactérias e/ou fungicida

Sementes de tomateiro Santa Cruz 'Kada' beneficiadas, mas sem nenhum tratamento foram cedidas pela empresa Feltrin® e as mesmas possuíam o percentual mínimo de germinação de 70%, que é aceito pelo MAPA para a comercialização de sementes de tomateiro. As sementes foram desinfestadas em álcool 70% por 1 minuto e hipoclorito de sódio a 5% por mais 1 minuto. Em seguida, as sementes foram lavadas em água destilada e autoclavada, por três vezes e postas sobre uma camada de papel filtro esterilizada durante a noite em câmara de fluxo laminar para secagem. O tratamento químico das sementes foi realizado com a aplicação do fungicida Orthocide 750® em pó molhável (dose de 1,5 g de ingrediente ativo captan por kg de semente). O método utilizado foi o de Slurry conforme utilizado por Correia et al. (2009) o qual consistiu em colocar as sementes em sacos plásticos e a estas adicionar 1% de água. A seguir adicionou-se o pó molhável e após o fechamento dos sacos, estes foram agitados até a verificação de uma perfeita cobertura das sementes. As sementes foram colocadas para secar em papel filtro previamente esterilizado durante a noite em câmara de fluxo laminar.

Para a microbiolização das sementes, as mesmas foram pesadas e separadas em sacos plásticos contendo 5 gramas de sementes cada. A cada saco foi inoculado 1 ml de suspensão bacteriana conforme descrito anteriormente e agitado por 30 segundos para homogeneização. Os sacos contendo as sementes tratadas com as diferentes bactérias permaneceram em repouso por 2 horas. Os ensaios foram montados em delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 10x2+1, sendo 10 rizobactérias e presença ou ausência de fungicida mais um tratamento adicional (apenas fungicida).

B. Multiplicação do inóculo de *Meloidogyne javanica*

O inóculo de *M. javanica* foi mantido em casa de vegetação em tomateiros cultivar 'Kada' Santa Cruz Gigante em vasos de 1,5 L de capacidade contendo substrato composto por solo arenoso previamente autoclavado. As mudas de tomateiro foram obtidas a partir da semeadura em bandejas de isopor contendo o substrato Bioplant® e aos 24 dias as

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

mudas foram transplantadas para os vasos. Após 60 dias as raízes foram submetidas à extração de ovos pela técnica de Hussey & Barker modificada por Boneti & Ferraz (1981).

C. Avaliação da colonização de raízes em areia autoclavada.

As sementes foram plantadas em copos descartáveis de 50 ml contendo areia previamente autoclavada. Estas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas duas vezes por semana com solução de Hoagland. A colonização das raízes foi avaliada aos 24 dias após a semeadura (DAS). A parte aérea das mudas foi separada das raízes e estas colocadas em beakers de vidro de 50 ml contendo 1 ml de água destilada e esterilizada. Em seguida foram sonicadas em banho de ultra som (Unique- Maxi clean 14000) para remover as bactérias aderidas as raízes. As suspensões foram plaqueadas em meio TSA, incubadas a 28°C e após 24 h realizou-se a contagem UFC. O volume restante das suspensões bacterianas associadas às raízes foi utilizado para a montagem dos testes de mortalidade e motilidade de J2 de *Meloidogyne javanica* para comprovar a colonização das raízes. Os dados foram transformados em log e os dados submetidos à análise de variância por meio do software SISVAR (FERREIRA, 2011). As médias das testemunhas foram comparadas com os demais tratamentos pelo teste de Dunnett a 5%, utilizando o software estatístico SAS (SAS- Institute, 1995).

Resultados e Discussão

Todas as rizobactérias conseguiram colonizar a rizosfera das mudas e permaneceram viáveis até os 24 dias após o plantio. *Bacillus pumilus*-76 apresentou número significativamente superior de U.F.C em raízes oriundas de sementes tratadas com a bactéria e fungicida, o que mostra que a bactéria provavelmente utilizou as moléculas do fungicida em seu metabolismo. *Paenibacillus lentimorbus*-69, *B. subtilis*-34 e *Bacillus pumilus*-1 não foram afetadas pela aplicação do fungicida às sementes mostrando-se compatíveis com o fungicida. Todas as bactérias produziram número de U.F.C significativamente superior à testemunha absoluta (Tabela 1). As U.F.C produzidas nas testemunhas fungicida e testemunha absoluta provavelmente foram de endofíticas e não das rizobactérias utilizadas no tratamento de sementes, pois verifica-se na Tabela 2 que o tratamento fungicida e solução salina não mataram os J2 de *M. javanica*, enquanto todas as rizobactérias proporcionaram mortalidade dos J2 variando de 83,10% a 100% (Tabela 2)

Uma das alternativas é o uso das PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), bactérias que colonizam ativamente o sistema radicular das plantas e promovem aumento no seu crescimento (Kloepper *et al.* 1991), além de melhorar a germinação das sementes, o desenvolvimento radicular, nutrição mineral, utilização de água e podem suprimir doenças de plantas (Siddiqui, 2005).

Conclusão

Bacillus pumilus-76, *Paenibacillus lentimorbus*-69, *B. subtilis*-34 e *Bacillus pumilus*-1 são compatíveis com fungicida no tratamento de sementes e colonizam as raízes de plantas de 24 dias de idade.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado, à FAPEMIG pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC) e da bolsa de incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento tecnológico (BIPDT).

Referências Bibliográficas

BEN-YEPHET, Y.; NELSON, E.B. Differential suppression of damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*, *P. irregulare*, and *P. myriotylum* in composts at different temperatures. **Plant Disease**, v.83, p.356-360, 1999.

Bloemberg, G.V.; Lugtenberg, B.J.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**. (4): 343-350.

DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ-FILHO, J. **Tratamento de sementes: controle de patógenos**. Viçosa:UFV, 1980. 121p.

FREITAS, S.S.; AGUILAR VILDOSO, C.I. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.987-994, 2004.

GEORGAKOPOULOS, D.G.; FIDDAMAN, P.; LEIFERT, C.; MALATHRAKIS, N.E. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, p.1078-1086, 2002.



Kloepper, J.W.; Zablutowicz, R.M.; Tipping, E.M.; Lifshitz, E. 1991. Plant growth promoting mediated by bacterial rhizosphere colonizers. *In: Keister, D.L.; Cregan, P.B. (Eds). The rhizosphere and plant growth*. Dordrecht, Kluwer: Academic Publishes. p. 315-326.

Mariano, R.L.R.; Silveira, E.B.; Assis, S.M.P.; Gomes, A.M.A.; Nascimento, A.R.P.; Donato, V.M.T.S. 2004. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. *Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agronômicas*, (1): 89-111.

Martínez-Viveros, O.; Joquera, M.A.; Crowley, D.E.; Gajardo, G.; Mora, M.L. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Science and Plant Nutrition* 10(3): 293-319.

NEERGAARD, P. *Seed pathology*. London: The Mac Millan Press, 1979. v.2, 1191p.

Siddiqui, Z.A. 2005. PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. *In: Siddiqui, Z.A. (Eds). PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Netherlands. p. 111-142.

TABELA 1. Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de mudas de tomateiro obtidas de sementes microbiolizadas com rizobactérias e tratadas com e sem fungicida, aos 24 dias após o plantio (DAS).

RIZOBACTÉRIA	24 DAS	
	SEM FUNGICIDA	COM FUNGICIDA
<i>Bacillus pumilus</i> -10	55,40 a A ^x y	35,93cB ^y
<i>Bacillus pumilus</i> -60	54,60 a A ^x y	46,80a B x ^y
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	54,43 a A ^x y	23,56dB ^x
<i>Bacillus pumilus</i> -3	54,06 a A ^{xy}	42,16 bB ^y
<i>Bacillus</i> sp.-36	53,76 a A ^x y	46,60 a B ^{xy}
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -69	53,30 a A ^x y	48,76aA ^x y
<i>Bacillus subtilis</i> -34	49,53 a A ^x y	45,26 b A ^y
<i>Bacillus pumilus</i> -1	46,90 b A ^x y	43,20 b A ^{xy}
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -24	44,66 bA ^y	38,33 cB ^y
<i>Bacillus pumilus</i> -76	34,36 cB ^y	50,10 aA ^{xy}
FUNGICIDA	38,80	
TESTEMUNHA ABSOLUTA	18,17	
CV (%)	19,92	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste Scott- Knott e F a 5 % de significância, respectivamente. Médias seguidas por x e y diferem significativamente em relação às testemunhas fungicida e testemunha absoluta, respectivamente pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

TABELA 2. Porcentagem de mortalidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* submetidos a diferentes isolados de rizobactérias *in vitro*.

RIZOBACTÉRIA	MORTALIDADE (%)
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -24	100,00 a *
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	100,00 a *
<i>Bacillus pumilus</i> -76	100,00 a *
<i>Bacillus pumilus</i> -01	99,33 a *
<i>Bacillus pumilus</i> -60	98,67 a *
<i>Bacillus pumilus</i> -10	95,92 a *
<i>Bacillus</i> sp.-36	95,01 a *
<i>Bacillus pumilus</i> -03	94,82 a *
<i>Bacillus subtilis</i> -34	91,10 b *
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -69	83,10 c *
FUNGICIDA	0
SOLUÇÃO SALINA	0
ÁGUA DESTILADA ESTERILIZADA	0
CV (%)	5,34

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Scott- Knott a nível de 5% de significância. Médias seguidas por * diferem significativamente em relação às testemunhas fungicida, solução salina e água destilada esterilizada pelo teste de Dunnett a 5% de significância.