

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS CERES
BACHARELADO EM AGRONOMIA
ISABELLA FERNANDES MOREIRA

**BIOCONTROLE DE *Burkholderia seminalis* SOBRE *Meloidogyne*
*enterolobii***

CERES – GO
2023

ISABELLA FERNANDES MOREIRA

BIOCONTROLE DE *Burkholderia seminalis* SOBRE *Meloidogyne enterolobii*

Trabalho de curso apresentado ao curso de Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia, sob orientação da Profa. Dra. Mônica Lau da Silva Marques.

**CERES – GO
2023**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

M838b Moreira, Isabella
 Biocontrole de Burkholderia seminalis sobre
 Meloidogyne enterolobii / Isabella Moreira;
 orientadora Mônica Lau da Silva Marques. -- Ceres,
 2023.
 15 p.

 TCC (Graduação em Bacharelado em Agronomia) --
 Instituto Federal Goiano, Campus Ceres, 2023.

 1. Controle Biológico. 2. Bactéria. 3. Nematóide.
 I. Lau da Silva Marques, Mônica , orient. II. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> XTCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional | - Tipo: |

Nome Completo do Autor: Isabella Fernandes Moreira

Matrícula: 2019103200240056

Título do Trabalho: Biocontrole de *Burkholderia seminalis* sobre *Meloidogyne enterolobii*.

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano:

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Ceres, 06 de Novembro de 2023.

Assinatura eletrônica do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura eletrônica do orientador

Documento assinado eletronicamente por:

- **Isabella Fernandes Moreira, 2019103200240056 - Discente**, em 21/11/2023 22:12:30.
- **Monica Lau da Silva Marques, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 21/11/2023 21:59:45.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 21/11/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 549295

Código de Autenticação: 7da21e9551



ANEXO IV - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Ao(s) dezoisete dia(s) do mês de novembro do ano de dois mil e vinte e três, realizou-se a defesa de Trabalho de Curso do(a) acadêmico(a) Isabella Fernandes Moreira, do Curso de Bacharel em Agronomia, matrícula 201910320024005 cujo título é "Biocontrole de *Burkholderia seminalis* sobre *Meloidogyne enterolobii*".

A defesa iniciou-se às 13 horas e 57 minutos, finalizando-se às 15 horas e 51 minutos. A banca examinadora considerou o trabalho aprovado com média 8,8 no trabalho escrito, média 9,7 no trabalho oral, apresentando assim média aritmética final 8,9 de **pontos**, estando o(a) estudante apta para fins de conclusão do Trabalho de Curso.

Após atender às considerações da banca e respeitando o prazo disposto em calendário acadêmico, o(a) estudante deverá fazer a submissão da versão corrigida em formato digital (.pdf) no Repositório Institucional do IF Goiano – RIIF, acompanhado do Termo Ciência e Autorização Eletrônico (TCAE), devidamente assinado pelo autor e orientador.

Os integrantes da banca examinadora assinam a presente.

Mônica Lou da Silva Marques

Assinatura Presidente da Banca

[Assinatura]

Assinatura Membro 1 Banca Examinadora

Tassia Duane Moreira dos Santos

Assinatura Membro 2 Banca Examinadora

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida, por estar sempre presente me guiando nas escolhas que me levaram até aqui, dando força, sabedoria, perseverança e fé.

Aos meus pais sempre estiveram presentes, me apoiando e incentivando no meu crescimento pessoal e profissional.

A minha Prof. Dra. Mônica Lau da Silva Marques pela oportunidade, ensinamentos, parceria e apoio durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Ceres, professores e servidores por proporcionarem um estudo de qualidade.

A Prof. Dra. Priscila Jane Romano Gonçalves e ao Prof. Wesley Melo Rangel por autorizarem e auxiliarem a utilização da cepa bacteriana *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3 durante os testes.

Ao Instituto Federal Goiano-Campus Morrinhos pela doação do inóculo de *M. enterolobii*.

RESUMO

Os nematoides são organismos responsáveis por grandes perdas na produtividade, o método de controle químico era um dos meios mais utilizados até então, todavia devido a sua persistência e toxidez hodiernamente tem se procurado por métodos alternativos de menor impacto. Nesse contexto, técnicas como o controle biológico vêm ganhando espaço e se mostrado eficientes. As bactérias e os fungos são os inimigos naturais dos nematóides que mais apresentaram potencial como agente de controle biológico. Algumas rizobactérias têm a capacidade de parasitar e/ou produzir metabólitos que interferem na reprodução, postura e eclosão de ovos, na sobrevivência dos estádios iniciais de desenvolvimento dos nematoides e/ou mortalidade de indivíduos adultos. A *Burkholderia seminalis* é uma rizobactéria vem sendo utilizada em diversos segmentos da agricultura como na biorremediação, promotora de crescimento e controle de fungos, todavia, ainda não há estudos sobre seu efeito em nematóides. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial de biocontrole do *Meloidogyne enterolobii* a partir da rizobactéria *Burkholderia seminalis*. O trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, que também concedeu o uso da cepa bacteriana utilizada durante os testes. O inóculo de *M. enterolobii* foi doado pelo laboratório de nematologia do IF Goiano- Campus Morrinhos e multiplicados na cultura da berinjela. Os ensaios foram utilizados cinco concentrações bacterianas diferentes com cinco repetições cada, sendo elas: T1 = 0 mL, T2 = 1mL, T3 = 3 mL, T4 = 6 mL e T5 = 9 mL, e cada unidade amostral tinha um número fixo de 120 ovos. As avaliações ocorreram em 24h, 48h e 72 horas. Após as avaliações, observou se que os tratamentos T3, T4 e T5 apresentaram ação ovicida para ovos de *Meloidogyne enterolobii*, onde o tratamento T5 apresentou os melhores resultados.

Palavras-chave: Controle biológico. Bactéria. Nematóide.

ABSTRACT

Nematodes are organisms responsible for large losses in productivity, the chemical control method was one of the most used means until then, however, due to their persistence and toxicity, alternative methods with lower impact have been sought nowadays. In this context, techniques such as biological control have gained ground and proven to be efficient. Bacteria and fungi are the natural enemies of nematodes that have the greatest potential as biological control agents. Some rhizobacteria have the ability to parasitize and/or produce metabolites that interfere with the reproduction, laying and hatching of eggs, the survival of the initial stages of nematode development and/or the mortality of adult individuals. *Burkholderia seminalis* is a rhizobacteria that has been used in various segments of agriculture, such as bioremediation, growth promoter and fungal control, however, there are still no studies on its effect on nematodes. Therefore, the objective of this work is to evaluate the biocontrol potential of *Meloidogyne enterolobii* from the rhizobacteria *Burkholderia seminalis*. The work was developed at the Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, which also granted the use of the bacterial strain used during the tests. The *M. enterolobii* inoculum was donated by the nematology laboratory at IF Goiano- Campus Morrinhos and multiplied in the eggplant culture. The assays used five different bacterial concentrations with five replications each, namely: T1 = 0 mL, T2 = 1 mL, T3 = 3 mL, T4 = 6 mL and T5 = 9 mL, and each sample unit had a fixed number of 120 eggs. Assessments took place over 24 hours, 48 hours and 72 hours. After the evaluations, it was observed that the T3, T4 and T5 treatments showed ovicidal action against *Meloidogyne enterolobii* eggs, where the T5 treatment showed the best results.

Keywords: Biological control. Bacterium. Nematode.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ovos de <i>M. enterolobii</i> no T1.....	08
Figura 2- Ovos de <i>M. enterolobii</i> às 48 h no T5.....	09
Figura 3- J2 morto durante seu processo de ecdise.....	09
Figura 4A - Ovo de <i>M. enterolobii</i> às 72h no T3.....	10
Figura 4B - Ovo de <i>M. enterolobii</i> às 72h no T4.....	10
Figura 5 - Ovo de <i>M. enterolobii</i> às 72h no T5.....	10

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	03
MATERIAL E MÉTODOS.....	05
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	07
CONCLUSÃO.....	11
REFERÊNCIAS.....	12

Biocontrole de *Burkholderia seminalis* sobre *Meloidogyne enterolobii*

Biocontrol of *Burkholderia seminalis* on *Meloidogyne enterolobii*

Isabella Fernandes Moreira

Graduada em Agronomia

Instituição: Instituto Federal Goiano - Campus Ceres

Endereço: Ceres – GO, Brasil

E-mail: isabellafernandesm55@gmail.com

Mônica Lau da Silva Marques

Doutora em Agronomia

Instituição: Instituto Federal Goiano – Campus Ceres

Endereço: Ceres – GO, Brasil

E-mail: monica.lau@ifgoiano.edu.br

RESUMO

Os nematoides são organismos responsáveis por grandes perdas na produtividade, o método de controle químico era um dos meios mais utilizados até então, todavia devido a sua persistência e toxidez hodiernamente tem se procurado por métodos alternativos de menor impacto. Nesse contexto, técnicas como o controle biológico vêm ganhando espaço e se mostrado eficientes. As bactérias e os fungos são os inimigos naturais dos nematóides que mais apresentaram potencial como agente de controle biológico. Algumas rizobactérias têm a capacidade de parasitar e/ou produzir metabólicos que interferem na reprodução, postura e eclosão de ovos, na sobrevivência dos estádios iniciais de desenvolvimento dos nematoides e/ou

mortalidade de indivíduos adultos. A *Burkholderia seminalis* é uma rizobactéria vem sendo utilizada em diversos segmentos da agricultura como na biorremediação, promotora de crescimento e controle de fungos, todavia, ainda não há estudos sobre seu efeito em nematóides. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial de biocontrole do *Meloidogyne enterolobii* a partir da rizobactéria *Burkholderia seminalis*. O trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, que também concedeu o uso da cepa bacteriana utilizada durante os testes. O inóculo de *M. enterolobii* foi doado pelo laboratório de nematologia do IF Goiano- Campus Morrinhos e multiplicados na cultura da berinjela. Os ensaios foram utilizados cinco concentrações bacterianas diferentes com cinco repetições cada, sendo elas: T1 = 0 mL, T2 = 1mL, T3 = 3 mL, T4 = 6 mL e T5 = 9 mL, e cada unidade amostral tinha um número fixo de 120 ovos. As avaliações ocorreram em 24h, 48h e 72 horas. Após as avaliações, observou se que os tratamentos T3, T4 e T5 apresentaram ação ovicida para ovos de *Meloidogyne enterolobii*, onde o tratamento T5 apresentou os melhores resultados.

Palavras-chave: Controle biológico. Bactéria. Nematóide.

ABSTRACT

Nematodes are organisms responsible for large losses in productivity, the chemical control method was one of the most used means until then, however, due to their persistence and toxicity, alternative methods with lower impact have been sought nowadays. In this context, techniques such as biological control have gained ground and proven to be efficient. Bacteria and fungi are the natural enemies of nematodes that have the greatest potential as biological control agents. Some rhizobacteria have the ability to parasitize and/or produce metabolites that interfere with the reproduction, laying and hatching of eggs, the survival of the initial stages of nematode development and/or the mortality of adult individuals. *Burkholderia seminalis* is a rhizobacteria that has been used in various segments of agriculture, such as bioremediation, growth promoter and fungal control, however, there are still no studies on its effect on nematodes. Therefore, the objective of this work is to evaluate the biocontrol potential of *Meloidogyne enterolobii* from the rhizobacteria

Burkholderia seminalis. The work was developed at the Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, which also granted the use of the bacterial strain used during the tests. The *M. enterolobii* inoculum was donated by the nematology laboratory at IF Goiano- Campus Morrinhos and multiplied in the eggplant culture. The assays used five different bacterial concentrations with five replications each, namely: T1 = 0 mL, T2 = 1 mL, T3 = 3 mL, T4 = 6 mL and T5 = 9 mL, and each sample unit had a fixed number of 120 eggs. Assessments took place over 24 hours, 48 hours and 72 hours. After the evaluations, it was observed that the T3, T4 and T5 treatments showed ovicidal action against *Meloidogyne enterolobii* eggs, where the T5 treatment showed the best results.

Keywords: Biological control. Bacterium. Nematode.

1 INTRODUÇÃO

Os nematóides pertencem ao filo Nematoda, possuem tamanho microscópico entre 0,3 a 3 mm, seu corpo apresenta formato cilíndrico, geralmente alongado e com as extremidades afiladas (GOMES *et al.*, 2021). Na agricultura, o grupo que possui maior importância são os fitonematoides, sendo responsáveis por grandes perdas na produtividade, estão presentes no solo e em estruturas vegetais, tais como folhas, caules e, principalmente, raízes (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

De acordo com uma pesquisa realizada pela Syngenta, em parceria com a consultoria Agroconsult e a Sociedade Brasileira de Nematologia (SBN), estima-se um prejuízo, causado por nematóides, de aproximadamente R\$ 65 bilhões de reais, na produção de diversos cultivos. Destaca-se a cultura da soja com um prejuízo estimado de 27,7 bilhões reais (SYNGENTA, 2022). O gênero *Meloidogyne* também conhecido como nematoides-das-galhas, é considerado como um dos grupos com maior potencial destrutivo.

Pinheiro *et al.*, (2015) descreve *Meloidogyne enterolobii* como uma das espécies mais agressivas, isso é devido a grande gama de culturas hospedeiras, pela sua distribuição geográfica e crescente disseminação, além de ter a

capacidade de quebrar a resistência de genótipos de plantas como tomateiros e pimenteiras resistentes a *M. arenaria*, *M. incognita* e *M. javanica*. Além de culturas de importância econômica, o mesmo também se multiplica em diversas plantas daninhas, entre elas *Amaranthus spinosus* (caruru), *Bidens pilosa* (picão-preto), *Solanum americanum* (Maria-pretinhas) e *Solanum paniculatum* (jurubeba) (MOTA *et al.*, 2023).

O manejo de fitonematóides costumava ser feito através do controle químico, todavia, devido ao seu alto custo, nível de toxicidade, risco de contaminação e poucas moléculas registradas, o mesmo vem sendo substituído por produtos biológicos (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Na safra 2021/2022 os bionematicidas representaram 55%, 94% e 100% das vendas para cana-de-açúcar, soja e milho, respectivamente (CULTIVAR, 2023).

O controle biológico é uma alternativa interessante, uma vez que, não possui contaminantes, não causa desequilíbrio ambiental e não deixam resíduos. Somado a isto, é economicamente mais viável e de fácil aplicação. Ele pode acontecer de maneira natural ou de forma induzida, ou seja, através de programas que aumentem a população e a atividade dos antagonistas dos nematóides (JATALA, 1986; STIRLING, 1991; FERRAZ & SANTOS, 1995). As bactérias e os fungos são os inimigos naturais dos nematóides que mais apresentaram potencial como agente de controle biológico (FORGHANI & HAJIHASSANI, 2020).

Nesse contexto, as rizobactérias são exemplos de controle biológico, que atuam de diversas formas. As rizobactérias são capazes parasitar e/ou produzir metabólitos que interferem na reprodução, postura e eclosão de ovos, na sobrevivência dos estádios iniciais de desenvolvimento dos nematoides e/ou mortalidade de indivíduos adultos (ZUCKERMAN & JASSON, 1984, SIDDIQUI & MAHMOOD, 1999). Esses mecanismos podem estar associados à produção de enzimas como lipases (SANTIN, 2008) proteases (DUNNE *et al.*, 2013) e quitinases (Zhang & Yuen, 2000), possibilitando a degradação dos ovos, e/ou produção de compostos tóxicos (OKA *et al.*, 1993; ARDUIM, 2006) que atuam como nematicidas ou nematostáticos.

O gênero *Burkholderia* vem destacando-se no setor agrícola, atuando no biocontrole, biodegradação/biorremediação e promoção de crescimento vegetal (PERIN *et al.*, 2006). A cepa *Burkholderia seminalis* em específico possui a

capacidade de solubilização de fósforo, produção de sideróforos, produção de ácido indolacético (AIA), entre outros (LUVIZOTTO *et al.*, 2010). Esta bactéria tem apresentado resultados positivos no controle de diversas doenças, como por exemplo, a fusariose, doença infecciosa provocada por fungos oportunistas do gênero *Fusarium* (CASTRO, 2018).

Todavia, não há estudos sobre o biocontrole de *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3 sobre *Meloidogyne enterolobii*, logo seria um estudo inédito e de extrema importância científica. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial do biocontrole de *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3 sobre *Meloidogyne enterolobii* *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, iniciou-se com a produção do inóculo de *M. enterolobii* em plantas de berinjela (*Solanum melongena* L.) variedade Nápoli. Para isto, foi realizada a semeadura das sementes comerciais Feltrin de berinjela em substrato comercial Biomix, em bandeja de isopor de 128 células, sendo colocadas três sementes por célula. Após o surgimento das folhas definitivas realizou-se o desbaste, deixando-se apenas uma muda. As mudas permaneceram no setor da olericultura. Após o aparecimento da 5ª ou 6ª folha definitiva, as mudas foram transplantadas para a casa de vegetação.

A doação do inóculo de *M. enterolobii* foi feita pelo laboratório de nematologia do IF Goiano Campus Morrinhos. Para a multiplicação do mesmo, a extração das raízes foi realizada método de Coolen e D'Herde (1972). Dessa forma, separou-se o solo das raízes, as mesmas foram homogeneizadas, lavadas em água corrente e cortadas com o auxílio de uma tesoura em pedaços de aproximadamente um centímetro, trituradas em liquidificador durante um minuto, com uma solução de hipoclorito de sódio a 5%. A solução de hipoclorito de sódio é utilizada para dissolver a massa de ovos, aumentando assim a eficiência durante a extração.

Em seguida, o material triturado foi passado em peneiras de 0,150 mm (100 *mesh*) e de 0,025 mm (500 *mesh*), simultaneamente. O conteúdo retido na

primeira peneira continha apenas impurezas sendo descartado. A suspensão contida na segunda peneira foi transferida para tubos falcon de 90 mL, adicionou-se um cm³ de caulim por amostra, pesadas em balança analítica com auxílio de uma pipeta, homogeneizadas e centrifugadas a 1.800 RPM por cinco minutos. Posteriormente, todo o sobrenadante foi descartado, adicionou-se a solução de sacarose (454 g de açúcar para 1.000 mL de água) e novamente as amostras foram centrifugadas a 1.800 RPM por um minuto. O sobrenadante foi lavado na peneira de 0,025 mm (500 *mesh*) em água corrente e reservado em tubos falcon devidamente identificados. Após o processo de extração, as amostras passaram por análise microscópica.

As mudas foram transplantadas, para sacos plásticos pretos com a capacidade de três quilogramas de solo. Os sacos plásticos foram preenchidos com substrato composto de uma mistura de solo e areia, na proporção de 2:1 (solo: areia), e autoclavados por 2 horas a 120 °C e pressão de 1,05 Kg.cm² (SANTOS, 2019). A autoclavagem foi realizada no laboratório de nematologia na Universidade Federal de Goiás (UFG) Campus Samambaia, em Goiânia. Para evitar que haja contaminação do inóculo com outras raças de nematoides que podem estar presentes, uma vez que se optou por trabalhar especificamente *M. enterolobii*. Devido ao processo de esterilização, o substrato encontrava-se hidrofóbico. Portanto, realizou-se o molhamento antes de receber as mudas.

O processo de inoculação dos nematóides foi realizado após duas semanas do transplante das mudas de berinjela, período necessário para garantir o pegamento das mudas e preparar-las para receber o inóculo de *M. enterolobii*. Após a contagem dos ovos de *M. enterolobii* em lâmina de Peters, em microscópio óptico sob aumento de 40x, a solução foi inoculada nas mudas de berinjela, em três furos equidistantes. A multiplicação dos nematoides durou cerca de aproximadamente três meses. Durante este período, as mudas foram regadas e adubadas. Quando necessário, foi feita a remoção de flores, com o intuito de induzir a planta a desenvolver o sistema radicular e evitar o desenvolvimento do sistema reprodutivo.

Para iniciar os testes *in vitro*, após o inóculo de *Meloidogyne enterolobii* ter sido multiplicado em plantas de *Solanum melongena* L., foi feita novamente a extração das raízes pelo método de Coolen e D'Herde (1972) e do solo pela metodologia

de Jenkins (1964). A viabilidade do material foi confirmada no laboratório de microscopia. Após isso, foi feita a separação de ovos e juvenil de segundo estágio (J₂), com o auxílio de uma Câmara de Peters em microscópio óptico (aumento de 40 x). Os J₂ são nematóides que sofreram ecdise e saíram do ovo, essa fase pode causar maior dano devido estarem móveis na planta. A cepa bacteriana *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3 foi cedida pelo laboratório de Interações Microbianas e Biotecnologia (LIMBio) do Instituto Federal Goiano - Campus Ceres. O inóculo foi multiplicado, a partir de colônias puras, em tubos falcon em meio Caldo Nutritivo, mantido sob agitação em incubadora de bancada Shaker, por 36 horas em temperatura de 25 °C até a obtenção de 10⁹ unidades formadoras de colônias (UFC) por mL. Para evitar a interferência do meio de cultura no resultado do trabalho, o inóculo foi centrifugado por 5 min a 3.500 rpm. O sobrenadante foi descartado e as células ressuspensas em água destilada estéril. Com isso, espera-se que ao final do processo a suspensão atinja a concentração de 1x10¹¹ UFC (unidades formadoras de colônias), concentração essa, baseada em diversos produtos biológicos disponíveis comercialmente com o Presence, Quartzo, Votivo, Surface, entre outros (AGROFIT, 2023).

Para avaliar o potencial de biocontrole *M. enterolobii* a partir da rizobactéria *Burkholderia seminalis*, o ensaio foi conduzido em beakers de 50 mL, utilizando-se cinco volumes do inóculo bacteriano, sendo elas: T1 = 0 mL, T2 = 1 mL, T3 = 3 mL, T4 = 6 mL e T5 = 9 mL, com cinco repetições cada. Foi colocado um número fixo de 120 ovos de *M. enterolobii* em cada unidade amostral. Os J₂ foram descartados devido ao trabalho ter optado trabalhar apenas com os ovos, que é a fase mais difícil de ser controlada.

As avaliações ocorreram em 24h, 48h e 72h após a inoculação da bactéria e ovo, analisado-se a alteração ou não na cor e estrutura dos ovos, com o auxílio de uma pipeta e da câmara de Peters em microscópio óptico (aumento de 40 x).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira avaliação foi realizada após 24 horas, onde observou-se que, já no menor volume do inóculo da bactéria (T2) (Figura 1), a interação entre a bactéria e o ovo deu início ao escurecimento na membrana interna do ovo. Os

volumes T3 e no T4 apresentaram alteração na coloração do ovo, mostrando-se mais escuros que o volume T2. Porém, sem alteração na parede (cutícula) do ovo.

O ovo de *Meloidogyne* sp. em sua composição apresenta cerca de 30% de quitina, camada conhecida popularmente como casca. Há também cerca de 50% de proteína, e uma camada lipídica que se divide em três membranas lipoprotéicas (BIRD & BIRD, 1998). No tratamento com o maior volume do inoculante bacteriano T5, já no primeiro dia, foi possível identificar o escurecimento do ovo e dano na sua estrutura de quitina, o processo de degradação da superfície do ovo. No tratamento controle T1, constituído apenas pelos ovos e água, não foram observadas mudanças na estrutura ou coloração dos ovos ao longo dos dias (Figura 1), como era esperado.

Figura 1- Ovos de *M. enterolobii* no T1.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Na avaliação aos 48h, os tratamentos T2 e T3 apresentaram-se mais escurecidos. No T4 observou-se o início do processo de degradação da superfície do ovo. Enquanto que, no T5 observou-se um estágio mais avançado de degradação com o extravasamento do material interno do ovo (Figura 2).

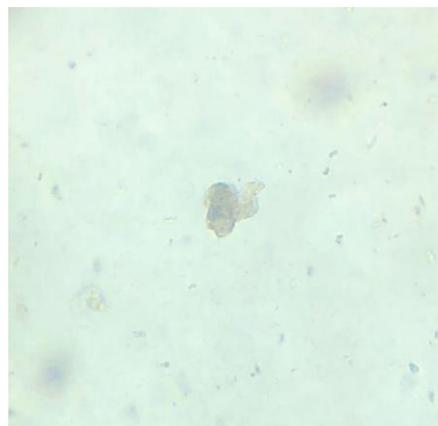
Figura 2- Ovos de *M. enterolobii* às 48 h no T5.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Uma fêmea do gênero *Meloidogyne* durante seu ciclo de vida é capaz de produzir cerca de até 2.500 ovos (COSTA, 2010). Em uma raiz durante o processo de extração é retirado ovos de diversas fêmeas, logo em uma mesma amostra havia ovos de diferentes estádios de desenvolvimento embrionário, indo desde a fase de blástula, gástrula, tadpole (girinos), passando pelo juvenil de primeiro estágio (J1) que sofre ecdise se tornado juvenil de segundo estágio (J2) (MOURA & CARNEIRO, 2018). De acordo com a fase de desenvolvimento do ovo, a interação com a bactéria *Burkholderia seminalis* pode provocar diferentes respostas. No tratamento T3, no segundo dia de avaliação, observou-se que nos ovos que estavam em estágio mais avançado, entre J1 e J2, ao sofrerem ecdise, durante o processo de rompimento da cutícula, a bactéria impediu a saída por completo do ovo, causando a sua morte (Figura 3).

Figura 3- J2 morto durante seu processo de ecdise.

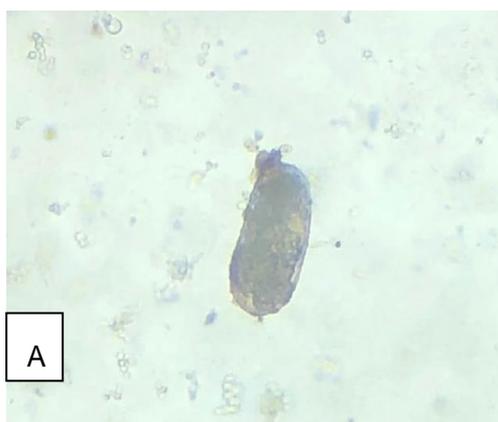


Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

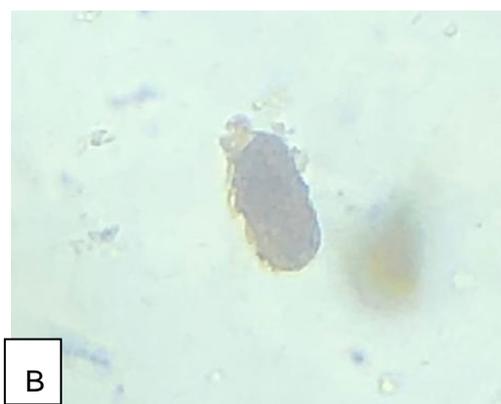
Na avaliação após 72h, apenas o tratamento T2 ainda apresentava sua

parede bem delimitada. A única alteração observada foi o escurecimento do ovo, por isso, acredita-se que a dose de 1 mL não foi eficiente para causar a ação ovicida sobre *M. enterolobii*. Os tratamentos T3 (Figura 4A) e T4 (Figura 4B) apresentaram rompimento da parede de quitina do ovo de *M. enterolobii*, enquanto que, no T5 (Figura 5) a maioria dos ovos apresentava estágio já avançado de degradação, que era difícil identificá-los. Logo, pode-se concluir que os tratamentos T3, T4 e T5 se mostraram eficientes para o controle *in vitro* para ovos de *M. enterolobii*, sendo o T5 a dose recomendada em decorrência de sua alta e rápida eficiência.

Figura 4 - A - Ovo de *M. enterolobii* às 72h no T3. B - Ovo de *M. enterolobii* às 72h no T4.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 5 - Ovo de *M. enterolobii* às 72h no T5.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

De acordo com Spiegel *et al.*, (1990) algumas bactérias promotoras de crescimento são produtoras de enzimas líticas, como as quitinases e as proteases, que são capazes de degradar as paredes de ovos de espécies de *Meloidogyne*, outras atrasam a eclosão de J2, interferem no processo de reconhecimento da planta hospedeira, ou atuam de forma a infectá-los causando sua morte.

Como dito anteriormente, *Burkholderia seminalis* cepa TC3.4.2R3 é uma rizobactéria, que além de promover o crescimento vegetal, também vem sendo estudada no controle de doenças como a fusariose (PERIN *et al.*, 2006). Até então não havia estudos sobre o potencial de *B. seminalis* TC3.4.2R3 para o controle biológico de . Os resultados obtidos demonstram que a espécie *B. seminalis* cepa TC3.4.2R3 é capaz inibir o desenvolvimento de ovos de *M. enterolobii*, como pode ser observado nas figuras acima.

No estudo realizado por Alves *et al.* (2020), também *in vitro*, os autores identificaram dois isolados bacterianos FCAV 6 e FCAV 8 que proporcionaram ação ovicida sobre *M. javanica*, no entanto não se mostraram eficientes para ovos de *M. incognita*. Dessa forma, verificada a eficiência do controle de *Burkholderia seminalis* cepa TC3.4.2R3 sobre ovos de *M. enterolobii*, pretende-se continuar este trabalho testando a eficiência da bactéria sobre outras raças de nematóides. iniciar os testes *in vivo*, ou seja, verificar a eficiência da bactéria no biocontrole do nematóide em plantas em experimentos em casa de vegetação e posteriormente, a nível de campo.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que, a rizobactéria *Burkholderia seminalis* cepa TC3.4.2R3 apresentou resultados positivos no biocontrole do *M. enterolobii in vitro* , comprovando-se sua capacidade ovicida.

O tratamento que apresentou maior eficiência foi o T5 (9 mL), seguido por T4 (6 mL) e T3 (3 mL). Novos testes são necessários para confirmar o uso de *Burkholderia seminalis* cepa TC3.4.2R3 como uma alternativa eficiente, sustentável e segura para os produtores rurais.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G. C. S. *et al.* **Avaliação *in vitro* do efeito de rizobactérias sobre *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zae*.** Arquivos do Instituto Biológico, v. 78, p. 557-564, 2020.
- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em:< <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>> . Acesso em: 15 de março de 2023.
- BIRD, A. F.; BIRDE, J. Introduction to functional organization. In: PERRY, R. N.; WRIGHT, D.J. (Ed.). **The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic.** Wallingford: CAB Internacional, 1998. p. 1-24.
- CASTRO, Renata Assis. **Identificação e caracterização de genes provenientes de *Burkholderia seminalis* TC3. 4.2 R3 relacionados ao controle da fusariose.** 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- COOLEN, W. A. & D'HERDE, C.J. **A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue.** Ghent, Bélgica. State Nematology and Entomology Research Station, 1972, 77p.
- COSTA, Lilian Simara Abreu Soares. **Perspectivas de supressividade e qualidade do inóculo rizosférico de *Meloidogyne exigua* no cafeeiro em alguns períodos do ano.** 2010.
- CULTIVAR, R. **Como o Brasil se tornou o maior produtor e consumidor de produtos de biocontrole.** Disponível em: <<https://revistacultivar.com.br/artigos/como-o-brasil-se-tornou-o-maior-produtor-e-consumidor-de-produtos-de-biocontrole>>. Acesso em: 29 de agosto de 2023.
- DUNNE, C., I. DELANY, A. FENTON & F. O'GARA. 2013 **Mechanisms involved in biocontrol by microbial inoculants.** Agronomie, 16:721-729.

FERRAZ, S. & SANTOS, M.A. **Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos**. Revisão Anual de Proteção de Plantas, v.3, p.283-314, 1995.

FORGHANI, F.; HAJIHASSANI, A. (2020). **Avanços recentes no desenvolvimento de tratamentos ambientalmente benignos para controlar nematoides das galhas**. Frente. Plant Sci. 11:1125. doi: 10.3389/fpls.2020.01125

GOMES, Arthur Caixeta; PIRES, Amanda Moreira Vinhal; DA MOTA, Diego Henrique. **Controle de nematoides na cultura do pimentão**. Perquirere, v. 2, n. 18, p. 41-48, 2021.

JATALA, P. **Biological control of plant-parasitic nematodes**. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v. 24, p. 453-489, 1986.

JENKINS, W.R. **A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil**. Plant Disease Reporter 48:692, 1964.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. **Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática**. Saúde debate, Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

LUVIZOTTO, D. M. *et al.* (2010). **Genetic diversity and plant-growth related features of *Burkholderia spp.* From sugarcane roots**. World Journal of Microbiology and biotechnology, 26 (10), 1829-1836.

MOTA, Erika Araújo; DE SOUZA JUNIOR, Francisco Jorge Carlos; SANTOS, Carmem Dolores Gonzaga. **Reação de plantas daninhas ao parasitismo pelo nematoide das galhas da goiabeira, *Meloidogyne enterolobii***. Diversitas Journal, v. 8, n. 1, 2023.

MOURA, R. M; CARNEIRO, J. **Desenvolvimento embrionário e eclosão em *Meloidogyne enterolobii***. Disponível em:

<https://nematologia.com.br/files/topicos/MELOIDOGYNE%20ENTEROLOBII_RomeiroMoura-1.pdf>. Acesso em: 08 de agosto de 2023.

OKA, Y., I. CHET & Y. SPIEGEL. 1993. **Control of the rootknot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. *Biological Science and Technology*, 3:115-126.**

OLIVEIRA, C.M.G., ROSA, J.M.O., GIORIA, R., and BRAGA, K.R.B. **Nematoides**. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T., FREITAS, P.S.L., BERIAN, L.O.S., and GOTO, R., comps. Hortaliças-fruto [online]. Maringá: EDUEM, 2018, pp. 315-338. ISBN: 978-65-86383-01-0.

PERIN, L., MARTINEZ-AGUILAR, L., PAREDES-VALDEZ, G., BALDANI, J.I., ESTRADA-DE LOS SANTOS, P., REIS, V. M., & CABALLERO-MELLADO, J. (2006). ***Burkholderia silvatlantica* sp. Nov., a diazotrophic bacterium associated with sugar cane and maize**. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(8), 1931-1937.

PINHEIRO, J. B.; BOITEUX, L. S.; ALMEIDA, M. R. A.; PEREIRA, R. B.; GALHARDO, L; C. S.; CARNEIRO, R. M. D. G. **First report of *Meloidogyne enterolobii* in *Capsicum* rootstocks carrying the Me1 and Me3/Me7 genes in central Brazil**. *Nematropica*, v. 45, p. 184- 188, 2015.

SANTIN, R. C. M. 2008. **Potencial do uso dos fungos *Trichoderma spp* e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris***. 92p. Tese de Doutorado. Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SANTOS, Ananda Rosa Beserra et al. **Biocontrole no manejo de *Pratylenchus brachyurus* na soja**. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 42, n. 3, p. 201-210, 2019.

SIDDIQUI, Z. A. & I. MAHMOOD. 1999. **Role of rhizobacteria in the management of plant-parasitic nematodes: A review**: *Bioresource Technology*, 69:167- 179.

STIRLING, G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes**: Progress, problems, and prospects. Wallingford: CAB International, 1991. 282p.

SPIEGEL, Y.; COHN, E.; GALPER, S.; LAPID, D.; SHARON, E.; CHET, I. **Evaluation of chitinolytic microorganisms for controlling the root-knot nematode, *Meloidogyne javani*** In: INTERNATIONAL NEMATODOLOGY CONGRESS, 2., 1990, Veldhoven, Canadá. Abstracts. Veldhoven, 1990. p.141.

SYNGENTA, 2022. **Pesquisa inédita revela mapa de crescimento e danos econômicos causados por nematóides e doenças iniciais nas principais culturas no Brasil.** Disponível em:<<https://www.syngenta.com.br/press-release/institucional/pesquisa-inedita-revela-mapa-de-crescimento-e-danos-economicos-causados>>. Acesso em: 28 de agosto de 2023.

ZHANG, Z. & G. Y. YUEN. 2000. The role of chitinase production by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 in biological control of *Bipolaris sorokiniana*. *Phytopathology*, 90:384-389

ZUCKERMAN, B. M. & H. B. JASSON. 1984. **Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host/prey recognition.** *Annual Review Phytopathology*, 22:95-113.