http://journal.unoeste.br/index.php/ca/index
DOI: 10.5747/ca.2019.v15.n2.a282
ISSN on-line 1809-8215

Colloquium Agrariae

Submetido: 22/10/2018 Revisado: 27/03/2019 Aceito: 16/04/2019

Controle biológico de *Meloidogyne incognita* por isolados de actinomicetos

Dérica Gonçalves Tavares[1], Jônatas Barros Santos[2], Alberto Nascimento Silva[2], Heliab Bonfim Nunes[2], João Luiz Coimbra[3]

[1]Universidade Federal de Lavras - UFLA. [2]Universidade de Brasília – UnB. [3]Universidade do Estado da Bahia – UNEB. E-mail: jonatas.bsantos@hotmail.com

Resumo

O Bioma Cerrado possui grande biodiversidade e também comporta parte da produção agrícola do Brasil, sendo utilizado para o cultivo de grandes culturas. A cotonicultura brasileira vem sendo praticada em alto grau de tecnificação, sendo que os principais estados produtores são o Mato Grosso e a Bahia. *Meloidogyne incognita* pode causar perdas significativas na cultura do algodoeiro. Dentre os micro-organismos com potencial para controle de fitopatógenos, os actinomicetos são conhecidos pela capacidade de produzir compostos com ação antimicrobiana. Objetivou-se, com o presente trabalho, isolar e avaliar o potencial antagônico de actinomicetos de solos de área nativa do Cerrado baiano contra *M. incognita*. Foram obtidos 18 isolados de actinomicetos e, dentre os isolados testados, AC. O apresentou o maior percentual (99,16) de imobilidade dos juvenis de segundo estádio (J2) de *M. incognita* e AC. R foi responsável pelo maior percentual (72,16) de mortalidade dos J2. Quando os isolados foram inoculados diretamente em plantas de algodão, dois dias antes da inoculação com os nematoides, não foi observado, *in vivo,* controle eficiente de *M. incognita*. Entretanto, o plantio do algodoeiro em solo que foi previamente utilizado para o cultivo da soja inoculada com os isolados de actinomicetos, foi verificado que no solo com o isolado AC. G reduziu significativamente os números de galhas e de ovos no sistema radicular do algodoeiro. Pelos resultados do presente trabalho, observa-se que existe potencial de controle deste fitopatógeno por actinomicetos testados *in vitro* e em casa de vegetação. Os resultados são interessantes, uma vez que, grande parte da produção de algodão é encontrada em áreas de Cerrado e esses micro-organismos foram isolados desse bioma. Entretanto, ensaios em campo são necessários visto que, embora esses actinomicetos façam parte dos solos do Cerrado, existe um microbioma que não é controlado como em condições laboratoriais.

Palavras-chave: Controle biológico; *Gossypium hirsutum*; nematoide das galhas.

Biological control of *Meloidogyne incognita* by isolates of actinomycetes

Abstract

The Cerrado Biome has great biodiversity and also includes part of the agricultural production of Brazil, being used for the cultivation of large crops. Brazilian cotton cultivation has been practiced in a high degree of technification, with the main producing states being Mato Grosso and Bahia. *Meloidogyne incognita* can cause significant losses in the cotton crop. Among the microorganisms with potential for phytopathogen control, actinomycetes are known for the ability to produce compounds with antimicrobial action. The objective of this work was to isolate and evaluate the antagonistic potential of actinomycetes of native soils of the Cerrado of Bahia state against *M. incognita*. It was obtained 18 isolates of actinomycetes and, among the isolates tested, AC. O presented the highest percentage (99.16) of immobility of juveniles of second stage (J2) of *M. incognita* and AC. R was responsible for the highest percentage (72.16) of J2 mortality. When the isolates were inoculated directly into cotton plants two days prior to nematoid inoculation, efficient control of *M. incognita* was not observed *in vivo*. However, planting of cotton in soil that was previously used for the cultivation of soybean inoculated with the actinomycete isolates, was verified in the soil with the isolate AC. G significantly reduced the numbers of galls and eggs in the cotton root system. From the results of the present study, it is observed that there is potential for control of this phytopathogen by actinomycetes tested in vitro and in greenhouse. The results are interesting, since much

cotton production is found in Cerrado areas and these microorganisms have been isolated from this biome. However, field trials are necessary since, although these actinomycetes are part of Cerrado soils, there is a microbiome that is not controlled as in laboratory conditions.
Keywords: Biological control; root-knot nematode; nematode of the galls.

Introdução

O avanço da cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Cerrado brasileiro resgatou o País da condição de importador para a de exportador de pluma. Este é o resultado conjunto da geração e da transferência de tecnologias que aperfeiçoaram o sistema produtivo, fazendo com que o Cerrado brasileiro detenha, em áreas não irrigadas, as mais altas produtividades da cultura no Brasil e no mundo (ARAÚJO, 2017). Contudo, fatores tais como pragas, doenças e fitonematoides podem influenciar na produção do algodoeiro, sendo este último considerado um dos principais responsáveis por perdas significativas de produtividade física ou econômica da cultura.

Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood (1949) é um nematoide-das-galhas que causa perdas que podem chegar a comprometer, praticamente, 50% da produção de uma lavoura, podendo inviabilizar o plantio em determinadas áreas (INOMOTO *et al.*, 2011). O nematoide causa galhas nas raízes das plantas, afetando a absorção de água, nutrientes, seu desenvolvimento vegetativo e a sua produção. Novas formas de controle de pragas e doenças têm sido testadas em substituição aos produtos químicos que são uma ameaça ao ambiente e aos animais em razão dos perigos que representam (SOLTANZADEH *et al.*, 2016). O controle biológico tem sido uma estratégia bastante estudada que emprega a utilização de outros organismos para o controle de pragas e doenças. Dentre os micro-organismos que podem ser utilizados estão os actinomicetos, que são bactérias filamentosas Gram-positivas, responsáveis por cerca de 45% dos antibióticos em uso na agricultura (LIU *et al.*, 2012). Além da produção de antibióticos também colonizam diferentes substratos e produzem esporos facilitando a sua dispersão e sua sobrevivência em condições adversas (CHARTER; HOPWOOD, 1984). Os actinomicetos desempenham um papel muito importante na rizosfera da planta, podendo ajudar na promoção do crescimento como também dar proteção as mesmas agindo contra fungos fitopatogênicos, verificando desse modo seu potencial no controle biológico (CRAWFORD *et al.*, 1993). Também atuam na biodegradação de polímeros como lignina, quitina e amido, sendo a quitina importante no controle de fitonematóides (CRAWFORD, 1988). São antagonistas a fungos e outros patógenos que colonizam a raiz e alguns parecem atuar como hiperparasitas de fungos, escleródios e oósporos e ainda podendo ajudar na formação de micorrizas (CRAWFORD *et al.*, 1993).

Considerando a potencialidade dos actinomicetos como agentes de controle biológico de patógenos de plantas, o objetivo do presente trabalho foi isolar e selecionar actinobactérias a partir de solos do Cerrado nativo no Município de Barreiras – BA, com atividade nematicida contra *M. incognita* em condições *in vitro* bem como o controle do nematoide *M. incognita* raça 3 no algodoeiro.

Material e Métodos

Isolamento das actinobactérias

As amostras de solo foram coletadas em locais de Cerrado nativo no Município de Barreiras-BA, em três pontos distintos. As coordenadas geográficas das áreas amostradas foram: Ponto 1 – Sul: 12°09’13” e Oeste: 44°57’19,1”; Ponto 2 – Sul: 12°09’10,2” e Oeste: 44°57’18,3”, e Ponto 3 – Sul: 12°09’17,6” e Oeste: 44°57’21,1”. Para o isolamento foram utilizados os métodos de Tsao *et al.* (1960) e Korn-Wendisch e Kützner (1992) com algumas modificações. As amostras de solo foram colocadas sobre papel alumínio e deixadas para secar durante 24 h, à temperatura ambiente. Dez gramas desse solo foram misturados a 1 g de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) e umedecido com 3 mL de água destilada esterilizada em placa de Petri e incubada a 26 °C por 10 dias. Após esse período, o solo enriquecido com $CaCO_3$ foi transferido para frasco de vidro com 90 mL de água destilada esterilizada e agitado durante 30 min a 140 rpm. Diluições seriadas foram realizadas e alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-3} a 10^{-5} foram plaqueadas em meio de amido (SCN - “Starch-casein-nitrate”) (10 g L^{-1} de amido solúvel, 0,3 g L^{-1} de caseína, 2 g L^{-1} de KNO_3, 2 g L^{-1}

de NaCl, 2 g L^{-1} de K_2HPO_4, 0,05 g L^{-1} de $MgSO_4.7\ H_2O$, traços de $CaCl_2$ e $FeSO_4.7\ H_2O$, 20 g L^{-1} de ágar; pH ajustado a 7.2). As placas foram acondicionadas em incubadora a 26 °C durante 30 dias e as colônias de actinomicetos que apareceram durante esse período foram repicadas para o meio SCN. A purificação dos isolados bacterianos foi realizada por sucessivas repicagens das colônias individuais em meio SCN até a obtenção das culturas puras.

Dezoito cepas de actinobactérias foram isoladas e denominadas AC. B, AC. D, AC. E, AC. F, AC. G, AC. H, AC. J, AC. K, AC. M, AC. N, AC. O, AC. P, AC. Q, AC. R, AC. S, AC. T, AC. U e AC. X. Estas cepas fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia do Departamento de Ciências Humanas, *Campus* IX, da Universidade do Estado da Bahia.

Preparo e padronização dos isolados

Os isolados utilizados foram cultivadas em meio SCN, descrito anteriormente, e incubados a 26 °C por sete dias. Após esse período, suspensões de esporos foram preparadas em água deionizada esterilizada e padronizadas em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 250 nm e absorbância de 0,6.

Nematoide (Meloidogyne incognita raça 3) - obtenção dos ovos e J2

O nematoide foi obtido de tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill) cultivar Santa Cruz (Kada), utilizados para multiplicação do nematoide. A extração dos ovos foi feita pelo método de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981). Para obtenção dos juvenis de segundo estádio (J2), foram montadas câmaras de eclosão em funil com uma tela e um papel toalha poroso onde foi depositada a suspensão com os ovos do nematoide. Os J2 que eclodiram após 24 h foram descartados, e foram utilizados apenas os eclodidos nas 24 h seguintes.

Material Vegetal

Os ensaios em condição de casa de vegetação foram conduzidos primeiramente em plantas de algodão cv. Delta Opal e, em segundo ensaio, de plantas de soja cv. BRS 314, seguidas novamente da cultivar de algodão Delta Opal.

Preparo e padronização dos isolados

Os isolados utilizados foram cultivadas em meio SCN, descrito anteriormente, e incubados a 26 °C por sete dias. Após esse período, suspensões de esporos foram preparadas em água deionizada esterilizada e padronizadas em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 250 nm e absorbância de 0,6.

Efeito de isolados de actinomicetos na mortalidade de M. incognita

Os isolados testados foram repicados em meio SCN e incubados a °C por sete dias. Após esse período, foram repicados novamente para tubos de ensaio contendo meio de aveia inclinado (30 g L^{-1} de aveia, 20 g L^{-1} de ágar) que foram acondicionados em incubadora a 25 °C por sete dias. Para obtenção dos metabólitos de actinobactérias, foram adicionados 5 mL de água destilada esterilizada em cada tubo, agitando-os por 1 min. Em seguida, 5 mL da solução foram transferidos para frascos esterilizados e 1 mL da suspensão com cerca de 100 J2 de *M. incognita* também foi adicionado ao frasco (COIMBRA; CAMPOS, 2010). Os frascos foram fechados e mantidos a 26 °C. Com auxílio de microscópio óptico, após 24 h, foi avaliada a porcentagem de J2 imóveis e, depois, estes foram transferidos para água e mantidos a 26 °C por mais 24 h. Os J2 que, após esse período, não recuperaram a mobilidade foram considerados mortos e foram contados com auxílio do microscópio óptico (COIMBRA; CAMPOS, 2010).

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. Para compor a testemunha, os J2 foram incubados em água deionizada esterilizada. Os dados foram transformados em logaritmo neperiano de X ($X = \mathrm{Ln}(X)$).

Teste in vivo de inibição de M. incognita no algodoeiro por actinobactérias

Foram utilizados 15 isolados nos testes *in vivo* para avaliar o efeito dos metabólitos no controle de *M. incognita* em algodoeiro (AC. B, AC. D, AC. E, AC. G, AC. J, AC. K, AC. M, AC. N, AC. O, AC. Q, AC. R, AC. S, AC. T, AC. U, AC. X) preparados e padronizados conforme descrito anteriormente. Sementes de algodoeiro foram semeadas em sacos plásticos contendo substrato esterilizado, padronizado para todos os ensaios, com mistura à base de solo-areia-esterco (2:1:1). Após 20 dias da semeadura do algodoeiro, foram adicionados 50 mL da suspensão de esporos das actinobactérias. Após dois dias, o substrato foi infestado com aproximadamente 1000 ovos de *M. incognita*. Após seis dias da infestação do substrato com os ovos do nematoide, esporos das actinobactérias foram novamente inoculados, sendo esta inoculação repetida a cada oito dias, totalizando cinco aplicações durante todo o experimento.

Após 45 dias da infestação com os ovos de *M. incognita*, foram realizadas as avaliações. As plantas tiveram seus sistemas radiculares limpos em água e, após isso, foi quantificado o número de galhas. Em seguida, foram feitas a extração dos ovos e a contagem em lâmina de Peters em microscópio óptico. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições e duas testemunhas: uma contendo somente o nematoide e a outra sem o nematoide e sem a suspensão de esporos. Os dados obtidos foram transformados para $\sqrt{x}+1$.

Avaliação da pré-inoculação da soja com isolados de actinomicetos e o seu efeito no controle de M. incognita no algodoeiro

Foram utilizados nove isolados de actinobactérias: AC. B, AC. D, AC. E, AC. G, AC. J, AC. N, AC. R, AC. T e AC. X. Semearam-se sementes de soja em sacos plásticos contendo substrato esterilizado. Vinte dias após a semeadura, foi adicionado, em cada saco, cerca de 50 mL da suspensão de esporos de actinobactérias. Sessenta dias após essa operação, as plantas de soja tiveram suas partes aéreas retiradas. Foram mantidos os sistemas radiculares e, no mesmo vaso, foi semeado o algodão. Quinze dias após o semeio foi realizada a infestação do substrato com cerca de 1000 ovos de *M. incognita.* Após a infestação do substrato com os ovos do nematoide, foi feita uma nova inoculação com os esporos de actinomicetos, sendo esta repetida a cada 15 dias, totalizando três aplicações no algodoeiro e uma na soja. Após 50 dias da infestação dos nematoides, foram realizadas as avaliações conforme descritas no experimento anterior.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental do tipo blocos ao acaso, com nove tratamentos e uma testemunha, com cinco repetições, tendo a testemunha recebido somente os ovos de *M. incognita.* Os dados de número de galhas por grama de raiz obtidos foram transformados para $\sqrt{x}+1$.

Analise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2011). As médias dos ensaios *in vitro* foram comparadas pelo teste de Scott e Knott, a 5% de significância, enquanto as médias dos ensaios *in vivo* foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Efeito de isolados de actinomicetos na mortalidade de M. incognita

Dos 18 isolados testados, 11 (61%) reduziram significativamente (P<0,05) a mobilidade dos J2 de *M. incognita* quando comparados com a testemunha (Tabela 1). O melhor resultado foi obtido pelo isolado AC. O, que reduziu a mobilidade do J2 em 99,16% após 24 h de incubação (Tabela 1). E dos 18 isolados de actinomicetos, 12 (62%) apresentaram efeito nematicida (P<0,05), causando a mortalidade do J2 de *M. incognita* em 48 h. Os melhores tratamentos foram obtidos com os isolados AC. X, AC. N, AC. S, AC. P e AC. R, que causaram de 51,48% a 72,16% de mortalidade dos J2 de *M. incognita* quando comparados à testemunha. Os exsudatos dos isolados AC. D, AC. K, AC. U, AC. G causaram imobilidade do J2 após 24 h, mas não causaram mortalidade com diferença estatística da testemunha (Tabela 1). O ato de transferir os J2 para água é importante para confirmar o seu efeito nematicida.

Tabela 1. Efeito de actinobactérias na mobilidade e mortalidade de juvenis de segundo estádio (J2) de *Meloidogyne incognita*.

Tratamentos	% de J2 imóveis	% de J2 mortos
AC. O	99,16 a	36,50 b
AC. N	48,32 b	53,04 a
AC. B	40,36 b	47,34 b
AC. J	34,56 b	31,16 b
AC. T	32,88 b	37,30 b
AC. P	31,58 b	59,08 a
AC. U	29,04 b	19,00 c
AC. E	28,52 b	20,16 c
AC. K	27,22 b	6,65 e
AC. D	26,28 b	12,82 d
AC. M	26,18 b	36,50 b
AC. Q	21,06 c	43,60 b
AC. G	18,50 c	12,06 d
AC. H	17,96 c	42,10 b
AC. S	17,34 c	56,18 a
AC. R	16,62 c	72,16 a
AC. X	16,06 c	51,48 a
AC. F	14,40 c	16,88 c
Testemunha (água)	18,62 c	19,68 c
CV (%)	13,51	13,32

Dados expressos como média dos tratamentos. Médias com letras distintas diferem, significativamente, pelo teste de Scott e Knott com $P < 0,005$.

Os isolados AC. R, AC. X, AC. S e AC. H não apresentaram efeito nematostático, porém, causaram mortalidade dos J2 após 48 h. Observa-se, com isto, que as substâncias presentes no exsudato dos actinomicetos, provavelmente, tenham penetrado nos J2, causando sua mortalidade após esse período.

Coimbra e Campos (2005) também testaram exsudatos obtidos de isolados de actinomicetos em J2 de *M. javanica*. Dos 37 exsudatos testados, seis apresentaram efeito nematicida causando a mortalidade de J2 de *M. javanica.* Sousa *et al.* (2006) avaliaram metabólitos produzidos por *Streptomyces griseus* subsp. *griseus* que causaram 98,2% de mortalidade em J2 de *M. incognita.* Estudos mostram que metabolitos secundários sintetizados por actinomicetos com efeito nematicida são produzidos principalmente pelo gênero *Streptomyces* e um número crescente de compostos ativos para agricultura e farmacologia tem sido selecionados e caracterizados (SANGLIER *et al.*, 1993; MELO, 1998).

No presente trabalho selecionamos isolados que sintetizaram substâncias antagônicas ao *M. incognita* a partir do cultivo em meio de cultura sólido. A obtenção e purificação de metabólitos com efeitos tóxicos a fitonematoides de colônias de actinomicetos crescidas em meio sólido pode facilitar a seleção de isolados, por não estarem misturadas a ingredientes do meio de cultura (COIMBRA; CAMPOS, 2005).

Teste in vivo de inibição de M. incognita no algodoeiro por actinobactérias

Nenhum isolado reduziu significativamente os números de galhas por grama de raiz e de ovos de *M. incognita* no sistema radicular do algodoeiro. Diante dos resultados encontrados, observou-se que a forma de aplicação dos isolados de actinomicetos no solo não foi suficiente para explorar o potencial dos seus metabólitos secundários contra *M. incognita*, ainda que se tenha feito essa comprovação *in vitro*. Isso ocorreu devido às condições nutricionais dadas aos actinomicetos *in vitro* serem muito diferentes das encontradas no solo. Além disso, o tempo de incubação destes isolados no solo, de apenas dois dias antes da inoculação com os nematoides, pode ter sido insuficiente para a colonização e produção de metabólitos. Em trabalho com a cultura do meloeiro, Medeiros *et al.* (2009) avaliaram 117 isolados de bactérias. Destes, três foram

selecionados por reduzirem significativamente a massa de ovos e, ou o índice de galhas. Contudo, quando novamente testados, de forma separada ou em misturas, esses isolados não mantiveram a eficiência na redução dessas variáveis. Estes resultados provavelmente ocorreram por haver condições ambientais diferentes das apresentadas em seu primeiro ensaio e também pelo curto tempo de inoculação, tendo sido apenas dois dias de intervalo entre a inoculação das bactérias e a inoculação com os nematoides, não tendo havido tempo suficiente para colonização das raízes e produção de substâncias tóxicas ao nematoide.

Resultados encontrados por Sousa *et al.* (2006), que avaliaram seis isolados de estreptomicetos no controle da *M. incognita* em mudas de tomateiro, mostraram uma redução de 68% no número de galhas por grama de raiz e de 76,8% na massa de ovos por grama de raiz, nas mudas produzidas no substrato infestado e incubado com *S. griseus* subsp. *griseus*, quando comparado com a testemunha. Os autores relatam ainda que um dos possíveis motivos para os bons resultados encontrados no experimento foi a infestação do substrato com os estreptomicetos 43 dias antes do plantio, e que, provavelmente, nesse período, houve a colonização e produção metabólitos secundários que inibiram a eclosão e causaram a mortalidade dos J2, reduzindo a infectividade nas raízes do tomateiro.

Avaliação da pré-inoculação da soja com isolados de actinomicetos e o seu efeito no controle de M. incognita no algodoeiro

Verificando a não efetividade da metodologia anterior, o mesmo experimento foi reconduzido, porém, incluindo a cultura da soja no sistema como cultura anterior à do algodão. Dessa forma, quando se inocularam as bactérias em uma cultura prévia à que seria testada, foi possível o controle biológico de *M. incognita* no algodoeiro por oito dos nove isolados de actinomicetos testados e a redução do número de ovos foi obtida em todos os tratamentos quando comparados a testemunha (Tabela 2)

Tabela 2. Efeito de isolados de actinomicetos na cultura da soja e sobre o parasitismo de *Meloidogyne incognita* no algodoeiro em cultivo subsequente.

Tratamentos	Nº de galhas	Nº de Ovos
AC. G	9,0 a	586 a
AC. X	11,0 ab	586 a
AC. J	12,0 ab	556 a
AC. R	12,8 ab	602 a
AC. T	13,4 ab	582 a
AC. B	13,4 ab	524 a
AC. D	14,0 ab	488 a
AC. N	15,2 ab	724 a
AC. E	12,6 bc	592 a
Testemunha	18,6 c	1046 b
CV (%)	11,5	17,75

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de Variação.

Como no ensaio anterior (*in vivo*), foram testados os mesmos isolados bacterianos, porém, sem utilizar a soja inoculada com as bactérias, não foi observado o controle biológico do nematoide no algodoeiro. No entanto, constatou-se, *in vitro*, a capacidade desses mesmos isolados de produzir metabólitos tóxicos a *M. incognita*. A constatação (Tabela 2) da eficiência dos mesmos isolados de actinomicetos em controlar o nematoide-das-galhas no algodoeiro, provavelmente, ocorreu devido ao tempo para as estirpes melhor se estabelecerem no solo, totalizando 55 dias antes do plantio do algodão, somando-se a isso, a presença de uma maior quantidade de nutrientes fornecidos pelos exsudatos radiculares da soja, o que estimulou o crescimento e a produção de metabólitos tóxicos aos nematoides.

Os actinomicetos são bactérias conhecidas pela produção de substâncias de

natureza nematicida (BENTLEY *et al.*, 2002). Resultados semelhantes foram obtidos anteriormente (JONATHAN *et al.*, 2000; SOUSA *et al.*, 2006; COIMBRA; CAMPOS, 2010), em que isolados de actinomicetos proporcionaram controle de *Meloidogyne* spp., reduzindo sua reprodução e também promovendo incremento no crescimento vegetativo das plantas.

Damasceno e Soares (2013) avaliaram o controle de *M. javanica* na cultura do tomateiro com 17 isolados de actinobactérias, para isso instalaram experimentos in vitro e in vivo. Nos ensaios *in vitro* houve efeito nematicida proporcionado pelos metabólitos produzidos por todos os isolados de actinobactérias, sendo observada taxa de mortalidade dos nematoides acima de 50%.

Já nos ensaios *in vivo* dos 17 isolados testados 10 promoveram importante diminuição do número de galhas. Com relação ao número de massa de ovos por planta nas raízes de tomateiro 3 isolados obtiveram resultados de redução de mais de 60%. Em relação à massa de ovos por grama de raiz, todos os isolados apresentaram efeito nematicida, com redução de até 76,4%.

Mais uma vez os autores justificam que uma das condições utilizadas na metodologia e que possibilitou o sucesso no controle no nematoide foi a pré-inoculação do substrato com as bactérias por 40 dias antes do plantio e mantidos a temperatura ambiente e com umidade próxima a capacidade de campo.

Assim sendo, a pré-inoculação de agentes de controle biológico em culturas que propiciem o desenvolvimento e estabelecimento de micro-organismos controladores de fitopatógenos deve ser incentivado, visando, consequentemente, à manutenção da sua população no solo, possibilitando o controle do patógeno. Dessa forma, a seleção e utilização de culturas que favoreçam o desenvolvimento destes micro-organismos pode ser uma estratégia eficaz no manejo integrado de patógenos de solo, incluindo o nematoide *M. incognita*.

Conclusões

Os isolados de actinomicetos testados apresentaram potencial para o controle *in vitro* de *M. incognita* e também possibilitaram o controle *in vivo* na cultura do algodoeiro quando associados à cultura da soja como sua precursora, demonstrando assim, uma forma de utilização dessas bactérias na cultura.

Referências

ARAÚJO, A. E. In: **Cultura do Algodão no Cerrado**. Embrapa Algodão. Sistema de Produção, 2 Versão Eletrônica 2ª edição. Jun/2017. Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7718&p_r_p_-996514994_topicoId=7985 Acesso em: 17 set. 2018.

BENTLEY, S. D.; CHATER, K. F.; CERDEÑO-TÁRRAGA, A. M.; CHALLIS, G. L.; THOMSON, N. R.; JAMES K. D.; HARRIS, D. E.; QUAIL, M. A.; KIESER, H.; HARPER, D.; BATEMAN, A.; BROWN, S.; CHANDRA, G.; CHEN, C. W.; COLLINS, M.; CRONIN, A.; FRASER, A.; GOBLE, A.; HIDALGO, J.; HORNSBY, T.; HOWARTH, S.; HUANG, C. H.; KIESER, T.; LARKE, L.; MURPHY, L.; OLIVER, K.; O'NEIL, S.; RABBINOWITSCH, E.; RAJANDREAM, M. A.; RUTHERFORD, K.; RUTTER, S.; SEEGER, K.; SAUNDERS, D.; SHARP, S.; SQUARES, R.; SQUARES, S.; TAYLOR, K.; WARREN, T.; WIETZORREK, A.; WOODWARD, J.; BARRELL, B. G.; PARKHILL, J.; HOPWOOD, D. A. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2). **Nature,** v.417, p.141-147, 2002. http://dx.doi.org/10.1038/417141a

BONETI, J. I.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira,** v.6, p.553, 1981.

CHARTER, K. F., HOPWOOD, D. A. ***Streptomyces* genetics.** In: GOODFELLOW, M., MORDARSKI, M., WILLIAMS, S. T. The Biology of the Actinomycetes. Academic Press, London, 1984. p.229-286.

COIMBRA, J. L.; CAMPOS, V. P. Efeito de exsudatos de colônias e de filtrados de culturas de actinomicetos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estádio de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira,** v.30, p.232-238, 2005. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582005000300003

COIMBRA, J. L.; CAMPOS, V. P. Efeito antagônico de actinomicetos isolados de ervas daninhas e gramíneas na formação de galhas e na reprodução de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra,** v.10, n.2, 2010.

CRAWFORD, D. L. **Biodegradation of agricultural and urban wastes.** In: GOODFELLOW, M.; WILLIANS, S. T.; MORDARSKY, M. Actinomycetes in Biotechnology. San Diego, Wiley Interscience, 1988. p.433-459.

CRAWFORD, D. L.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M.; OUSLEY, M. A. Isolation and characterization of actinomycete antagonist of a fungal root pathogen. **Applied and environmental microbiology,** v.59, n.11, p.3899-3905, 1993. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-289673-6.50015-4

DAMASCENO, J. C. A.; SOARES, A. C. F. Controle por bactérias de nematoides que atacam a cultura do tomate. **Cultivar HF**, v.11, p.16-18, 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia,** v.35, n.6, p.1039-1042, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods for colecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter,** v.57, p.1025-1028, 1973.

INOMOTO, M. M.; SIQUEIRA, K. M. S.; MACHADO, A. C. Z. Sucessão de cultura sob pivô central para controle de fitonematoides: variação populacional, patogenicidade e estimativa de perdas. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.3, p.178-185, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762011000300006

JONATHAN, E.; BARKER, K. R.; ABDEL-ALIM, F. F.; VRAIN, T. C.; DICKSON, D. W. Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato and banana with rhizobacteria, actinomycetes, and *Pasteuria penetrans*. **Nematropica,** v.30, n.2, p.231-240, 2000.

KORN-WENDISCH, F.; KÜTZNER, H. J. The family Streptomycetaceae. In: BALOWS, A.; TRÜPER, H. G.; DWORKIN, M.; SCHULEIFER, K. H. (Eds.). **The *prokaryotes*.** 2.ed. New York: Springer-Verlag. 1992. p.921-995.

LIU, X.; BOLLA, K.; ASHFORTH, E. J.; ZHUO, Y.; GAO, H.; HUANG, P.; STANLEY, S. A.; HUNG, D. T.; ZHANG, L. Systematics-guided bioprospecting for bioactive microbial natural products. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.101, p.55-66, 2012. https://doi.org/10.1007/s10482-011-9671-1

MEDEIROS, J. E.; MARIANO, R. L. R.; PEDROSA, E. M. R.; SILVEIRA, E. B. Inconsistency of the biological control of *Meloidogyne incognita* race 2 in melon by endophytic and rhizosphere bacteria. **Horticultura Brasileira,** v.27, n.3, p.319-324, 2009. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362009000300010

MELO, I. S. **Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos.** In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. Controle biológico. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 17-67.

SANGLIER, J. J.; WELLINGTON, E. M. H.; BEHAL, V.; FIEDLER, H. P.; GHORBEL, R. E.; FINANCE, C.; HACENE, M.; KAMOUN, A.; KELLY, C.; MERCER, D. K.; PRINZIS, S.; TRIGO, C. Novel bioactive compounds from actinomycetes. **Research in Microbiology,** v.144. p.661-663. 1993. https://doi.org/10.1016/0923-2508(93)90071-9

SOLTANZADEH, M.; NEJAD, M. S.; BONJAR, G. H. S. Application of soil-borne actinomycetes for biological control against *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum*) caused by *Fusarium solani* f. sp. *pisi*. **Journal of Phytopathology,** v.164, p.967-978, 2016. https://doi.org/10.1111/jph.12517

SOUSA, C. S.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; ALMEIDA, G. M. C. O. Estreptomicetos no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.41, n.12, p.1759-1766, 2006. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2006001200010

TSAO, P. H.; LEBEN, C.; KEITT, G. W. An enrichment method for isolating actinomycetes that produce diffusible antifungal antibiotics. **Phytopathology,** v.50, p.88-89, 1960.