

BACILLUS SUBTILIS E ABAMECTINA NO CONTROLE DE NEMATOIDES E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM ALGODOEIRO CULTIVADO EM SOLOS NATURALMENTE INFESTADOS

William Akio Higaki e Fabio Fernando de Araujo*

¹University of São Paulo West, Agronomy Pos-Graduation, Rodovia Raposo Tavares, km 572. CEP 19067-175 Presidente Prudente, SP, Brazil; *Author for correspondence: fabio@unoeste.br

ABSTRACT

Higaki, W.A. and F. F. Araujo. 2012. *Bacillus subtilis* and abamectin for nematode control and physiological changes in cotton grown in soil naturally infested. *Nematopica* 42:295-303.

The aim of this study was to evaluate the effects of cotton seed treatments with *Bacillus subtilis* and a chemical nematicide (abamectin) on plant development in soils infested with nematodes. For this, the cotton genotypes IAC 25, Deltaopal and Nuopal were cultivated in ceramic pots with 10 kg of soil in a greenhouse. The soils samples were collected from areas under cotton cultivation in western Bahia State infested with *Pratylenchus brachyurus* and *Rotylenchulus reniformis*. To evaluate the efficiency of biological control of nematodes with *B. subtilis*, a previous inoculation of the cotton seeds at the date planting was made comparatively to the reference the application of the nematicide abamectin (AVICTA 500 FS®) in the seeds. After 45 days of cultivation leaf samples were collected for proline and peroxidase analyzes in all treatments. The plants were analyzed 60 days after planting for active nematodes in the root and in the soil. The most susceptible genotype (Deltaopal) showed higher proline content in their leaves. The hypothesis that the *B. subtilis* could act effectively in the control of the nematodes *R. reniformis* and *P. brachyurus* in cotton plants was confirmed in this study. It was also observed that the treatment of cotton seeds with *B. subtilis* was as efficient as the treatment with the chemical nematicide abamectin. The cotton genotypes responded differently to the chemical and biological control treatments. The effects of the both seed treatments on the reduction of the nematodes and on the plant growth were more pronounced in the soils with higher infestation.

Key words: *Gossypium hirsutum*, rhizobacteria, biological control, parasitic plant nematodes.

RESUMO

Higaki, W.A. and F. F. Araujo. 2012. *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de nematoides e alterações fisiológicas em algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados. *Nematopica* 42:295-303.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o crescimento e alterações fisiológicas do algodoeiro em solo infestado com nematoides em função do tratamento de sementes com *Bacillus subtilis* e abamectina. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação utilizando-se vasos cerâmicos com solo. Foram utilizados os genótipos de algodoeiro: IAC 25, Deltaopal e Nuopal. O solo foi coletado em área de cultivo de algodoeiro nos municípios de Luiz Eduardo Magalhães e São Desidério, localizados no oeste baiano; com histórico de infestação natural de *Pratylenchus brachyurus* e *Rotylenchulus reniformis*. Para a avaliação da eficiência do controle biológico de nematoides com *B. subtilis*, procedeu-se a inoculação prévia das sementes de algodão no momento da semeadura, utilizando-se também como referência comparativa a aplicação de nematicida (abamectina) nas sementes. As plantas foram coletadas aos 60 dias após a semeadura. Aos 45 dias de cultivo foram coletadas amostras de tecido foliar para realização de análises de prolina e peroxidase nas plantas. Na avaliação final, procedeu-se a extração de nematoides em cada tratamento. Os genótipos mais suscetíveis aos nematoides apresentaram maior concentração foliar de prolina. A hipótese de que *B. subtilis* possa atuar de forma eficaz no controle dos nematoides (*R. reniformis* e *P. brachyurus*) no cultivo do algodoeiro foi confirmada. Foi também comprovado que o tratamento com *B. subtilis* equivaliu à eficiência ao controle obtido pelo uso do nematicida químico. Os genótipos de algodoeiro responderam de forma diferente aos tratamentos efetuados para controle dos nematoides. O controle de nematoides e o aumento no crescimento das plantas, em função dos tratamentos efetuados, foram mais significativo no solo com maior infestação dos patógenos.

Palabras clave: *Gossypium hirsutum*, rizobacteria, controle biológico, nematoides parasitas de plantas.

INTRODUÇÃO

O Brasil situa-se entre os maiores produtores mundiais de algodão, tanto pela produção de fibras como de sementes (Freire, 2007). Cerca de 3,7 milhões de toneladas são produzidas, colocando o país em posição de destaque na exportação mundial de fibras (IBGE, 2010).

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood), das lesões (*Pratylenchus brachyurus* Godfrey) e o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Lindford e Oliveira) são considerados os mais importantes para a cultura do algodoeiro no Brasil (Inomoto, 2001). Os sintomas dos nematoides podem ocorrer na forma de murcha das plantas durante os períodos mais quentes do dia, menor desenvolvimento das plantas devido ao comprometimento do sistema radicular, queda prematura das folhas, sintomas de deficiência nutricional, decréscimo da eficiência das raízes em absorver e translocar nutrientes e menor crescimento da parte aérea (Tihohod, 2000). Os sintomas descritos podem ser confundidos com condições adversas do solo como deficiência nutricional, compactação ou mesmo com outros patógenos (Asmus e Inomoto, 2007).

O estresse a que as plantas são submetidas, decorrentes de fatores como temperatura, umidade, radiação solar, ataque de patógenos, entre outros, podem mudar a constituição de compostos moleculares como mecanismo de resposta e, em algumas situações essas alterações podem estar ligadas com a proteção e defesa da planta (Shewry e Lucas, 1997). Nas substâncias relacionadas com a defesa química, destacam-se os aminoácidos não proteicos, os alcaloides, os fenóis, as saponinas, as lectinas, as quitinases, as glucanases, os flavonoides, os inibidores de protease e os alérgenos (Bowles, 1990). Segundo Doney *et al.* (1970), os nematoides induzem estresse em beterrabas devido ao aumento de aminoácidos livres na seiva das plantas. Ghasempour *et al.* (2007) afirmaram que a presença de nematoides no solo e a posterior infecção das raízes pelo parasita podem levar ao estresse de forma análoga ao efeito de ausência de água, proporcionando aumentos dos teores de prolina na beterraba. Muitas enzimas vegetais também estão envolvidas em reações de defesa contra fitopatógenos, incluindo enzimas oxidativas, como peroxidase e polifenol oxidase (Chen *et al.*, 2000).

As estratégias de manejo dos nematoides incluem o controle químico, práticas culturais, controle biológico e uso de cultivares resistentes (Ruano, 1997). A estratégia do controle biológico possibilita a diminuição da densidade populacional do parasita no campo e equilibra a microbiota do solo, tornando-o supressivo ao patógeno (Padilha e Samuel, 2000).

As rizobactérias podem atuar diretamente sobre os nematoides por meio de antibióticos e toxinas que inibem a eclosão e a motilidade dos juvenis, reduzindo a invasão dos nematoides nas raízes das plantas. Além disso, podem modificar os exsudatos radiculares,

fazendo com que os mesmos não sejam reconhecidos pelos nematoides e, conseqüentemente inibindo a eclosão (Ramamoorthy *et al.*, 2001). Algumas espécies de microrganismos deste grupo são capazes de promover proteção substancial contra nematoses destacando-se *B. subtilis* (Siddiqui *et al.*, 2001). Esta rizobactéria já foi relatada como antagonista de nematoides formadores de galhas, podendo ser utilizada no manejo de culturas econômicas visando reduzir os efeitos deletérios dos fitonematoides (Li *et al.*, 2005; Cardoso e Araujo, 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle de *P. brachyurus* e *R. reniformis* e o crescimento e alterações fisiológicas de três genótipos de algodoeiro (IAC 25, Deltaopal e Nuopal) em solos infestados com nematoides, em função do tratamento de sementes com *B. subtilis* e nematicida químico (abamectina).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em condições de casa de vegetação no período de janeiro a julho de 2011. O solo utilizado no experimento foi coletado em áreas de cultivo de algodoeiro dos municípios de Luis Eduardo Magalhães (12°09'40" S 44°59'76" W) e São Desidério (11°31'21" S 45°58'52" W) situados no oeste do Estado da Bahia. No município de Luis Eduardo Magalhães (L1) foram quantificados em 100 cm³ de solo, 04 espécimes de *P. brachyurus* e 16 espécimes de *R. reniformis*, enquanto no município de São Desidério (L2) foram quantificados 96 espécimes de *P. brachyurus* e 6048 espécimes de *R. reniformis*. A quantificação foi feita após o processamento das amostras de acordo com a técnica de Coolen e D'Herde (1972).

O experimento foi conduzido em vasos de cerâmica com capacidade para 10 kg de solo. Foram utilizados os genótipos de algodoeiro: IAC 25, Deltaopal e Nuopal, sendo que o IAC 25 é caracterizado como resistente às principais espécies de nematoides (Galbieri *et al.*, 2009). As sementes dos três genótipos foram submetidas a tratamentos com nematicida abamectina (Produto comercial Avicta®) na dosagem de 3 mL do produto comercial por quilograma de sementes. Após a homogeneização do produto com as sementes foi efetivada a semeadura (cinco sementes por vaso). Para o tratamento biológico das sementes foi utilizado à estirpe AP-3 de *B. subtilis*, descrita como promotora de crescimento de plantas (Araujo *et al.* 2005) e com ação antagonista a nematoides (Araujo e Marchesi, 2009). A bactéria foi multiplicada em meio sólido (ágar nutriente) a 28°C por sete dias. Em seguida as células foram raspadas com auxílio de auxílio de alça de platina, transferidas para 10 mL de água esterilizada e submetidas a agitação em Vortex® com o objetivo de promover a dispersão da bactéria. Após este procedimento realizou-se a leitura da suspensão em espectrofotômetro na faixa de 540 nanômetros calibrando-se para o valor 1,0 de absorbância (equivalente a concentração de 5,0 x 10⁸ bactérias/mL). Para o tratamento biológico foi aplicado

1,0 mL da suspensão bacteriana sobre cada semente no berço de semeadura.

O delineamento experimental empregado foi de blocos inteiramente casualizados com distribuição em arranjo fatorial de três genótipos, três tratamentos (*B. subtilis*, abamectina e controle), dois locais de coleta dos

solos e quatro repetições, totalizando 72 parcelas.

As plantas foram conduzidas durante 60 dias em casa de vegetação com reposição periódica da umidade do solo para próximo da capacidade de campo. Após este período, as plantas foram coletadas cuidadosamente separando-se as partes aérea e

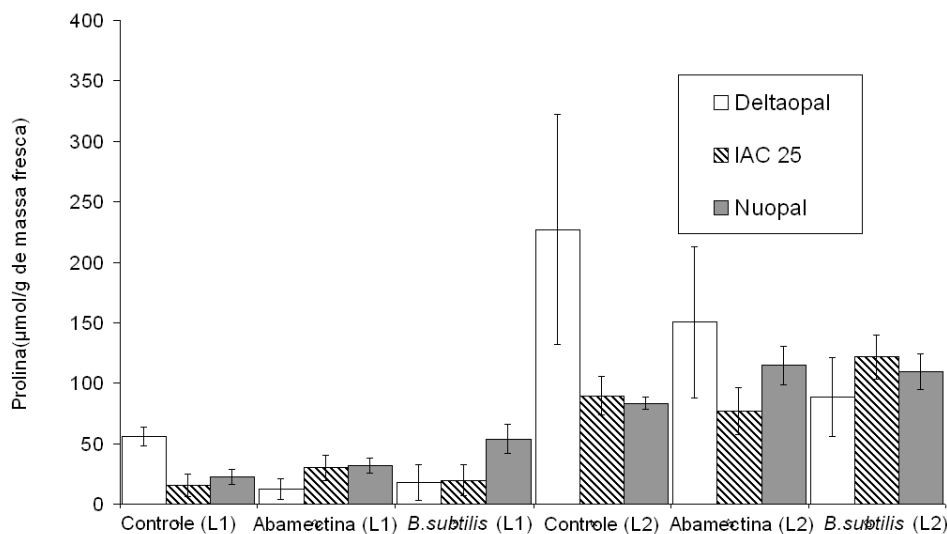


Figura 1. Teor de prolina em folhas de algodoeiro em função dos tratamentos com abamectina e *Bacillus subtilis* em três genótipos (Deltaopal, IAC 25 e Nuopal) cultivados em solos de duas localidades: L1 = Luis Eduardo Magalhães; L2 = São Desidério.

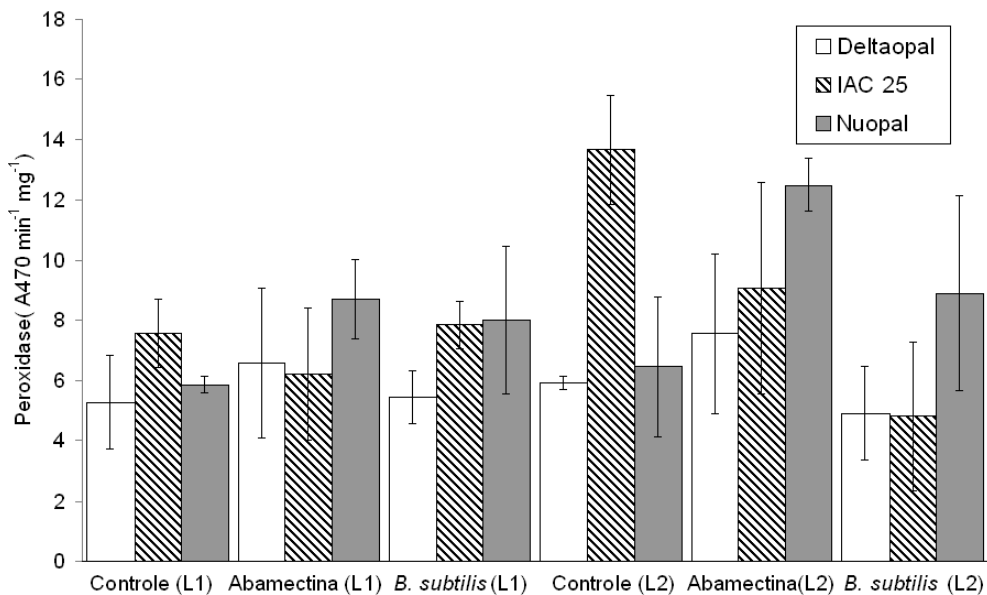


Figura 2. Atividade de peroxidase em folhas de algodoeiro em função dos tratamentos com Abamectina e *B. subtilis* em três genótipos (Deltaopal, IAC 25 e Nuopal) cultivados em solos de duas localidades: L1 = Luis Eduardo Magalhães; L2 = São Desidério.

radicular e amostras de solo foram coletadas em cada um dos vasos. A parte aérea foi secada em estufa (60°C) até a obtenção de massa constante. As raízes, imediatamente após coletadas, foram lavadas em água corrente, deixadas secar sobre papel absorvente durante quatro horas, pesadas e submetidas aos procedimentos de trituração e extração de ovos e formas ativas de nematoides (Coolen e D'Herde, 1972). Após a contagem dos ovos e formas ativas de cada espécie de nematoides os resultados foram expressos em ovos e juvenis por g de raiz⁻¹. Para extração de nematoides nas amostras de solo foi utilizada a metodologia de Jenkins (1964) e os resultados expressos em formas ativas por 100 cm³ de solo.

Para a análise de concentração de prolina livre, no tecido foliar aos 45 dias após a emergência, no terço médio das plantas, 300 mg de tecido foliar da parte aérea foram macerados em 10 mL de ácido sulfosalicílico a 3%. Em seguida foi feita a filtragem em papel de filtro. Dois mililitros do filtrado foram colocados em tubo de ensaio com 2ml de niidrina ácida e 2ml de ácido acético glacial. As amostras foram mantidas em banho maria por 1 h Após este período, a solução foi resfriada em banho de gelo e em seguida foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 520nm (Bates *et al.*, 1973). As leituras foram feitas em triplicata.

Para análise de atividade da peroxidase, de acordo com a metodologia descrita por Araujo *et al.* (2005), aos 45 dias após a emergência amostras de 100 mg de tecido foliar foram coletadas, maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato de sódio (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄) 0,01 mol L⁻¹, pH 6,0. Em seguida foram centrifugadas a 20.000G, por 25 min a 4°C. A atividade da peroxidase foi medida pela adição de 0,1 mL do sobrenadante em 2,9 mL de tampão fosfato contendo guaiaacol e água oxigenada. A leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro a 470 nm e a atividade enzimática foi expressa em A₄₇₀ min⁻¹ mg⁻¹ da amostra fresca.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância para obtenção dos valores de F. Para comparação das médias, foi empregado o teste Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003).

RESULTADOS

De acordo com os teores foliares de prolina observou-se que os genótipos cultivados no solo L2, onde se encontrava a maior infestação de nematoides (Tabela 1), apresentaram os maiores valores desse aminoácido quando comparados àqueles cultivados no solo L1 (Figura 1). Na comparação entre os genótipos de algodoeiro avaliados, observou-se que o Deltaopal apresentou, no tratamento controle, os maiores teores de prolina em comparação aos genótipos IAC 25 e Nuopal, nos dois níveis de infestação, correspondentes aos locais L1 e L2. O genótipo Nuopal, quando tratado com *B. subtilis* ou abamectina, apresentou teores foliares de

prolina superiores ao controle nos dois locais avaliados. Isso indica que pode ter ocorrido algum estresse na planta decorrente dos tratamentos efetuados.

O genótipo IAC 25, no tratamento controle, e o genótipo Nuopal, no tratamento com abamectina, quando cultivado no solo com maior infestação de nematoides (L2) apresentaram maior atividade da peroxidase quando comparado ao cultivo no solo com menor infestação (Figura 2). Foi observado também que apenas o genótipo Deltaopal apresentou baixa atividade de peroxidase em alguns tratamentos comparando-se com outros genótipos, podendo ser apontado essas diferenças nos tratamentos controle (L2) e abamectina (L2) quando comparou-se aos genótipos IAC 25 e Nuopal, respectivamente.

Na avaliação de crescimento das plantas, considerando a média dos dois locais avaliados, observou-se no genótipo IAC 25 aumento da massa fresca das raízes e seca da parte aérea, quando tratados previamente com *B. subtilis*. Por outro lado, o genótipo Nuopal apresentou maior massa de raízes quando tratado com abamectina (Tabela 1). Destaca-se também a interação que ocorreu entre IAC 25 e *B. subtilis*, pois esse genótipo apresentou as maiores massas de raiz e parte aérea quando tratado com a bactéria o que não ocorreu nos outros tratamentos.

Analisando-se separadamente cada local de origem do solo verificou-se que houve redução no crescimento das plantas do tratamento controle no local com maior infestação de nematoides (Tabela 2). Entretanto, ocorreram diferenças no desempenho das plantas no solo proveniente de cada um dos locais, destacando-se o *B. subtilis* com resposta significativa para crescimento da parte aérea no solo com maior infestação de nematoides (L2) e abamectina no crescimento das raízes do algodoeiro no solo com menor infestação de nematoides (L1).

Na avaliação média nos dois locais estudados, verificou-se redução significativa da população de *R. reniformis* nas raízes de algodoeiro apenas no genótipo IAC 25 quando tratado com *B. subtilis* e abamectina (Tabela 3). Pode ser observado também que o genótipo IAC 25, sem tratamento não conseguiu reduzir a presença de *R. reniformis* nas raízes quando comparado aos genótipos suscetíveis aos nematoides.

Os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina foram efetivos para reduzir a infestação de nematoides nas raízes do algodoeiro no local L2 (Tabela 4) que apresentava a maior infestação de *R. reniformis* e *P. brachyurus* conforme constatado previamente e apresentado na Tabela 1.

Nota-se, ao observar a Tabela 5, que ocorreu baixo efeito dos tratamentos químico e biológico na redução de formas ativas de nematoides no solo na média dos dois locais avaliados no final do experimento. Apenas no genótipo Deltaopal os tratamentos efetuados nas sementes reduziram significativamente o número de formas ativas no solo em relação ao controle. Entretanto, verificou-se que o controle de ovos e juvenis no solo

Tabela 1. Médias das massas das raízes frescas e da parte aérea seca de três genótipos de algodoeiro tratados com *Bacillus subtilis* e abamectina cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides.

Tratamentos	Massa de raízes frescas (g/planta)			Massa da parte aérea seca (g/planta)		
	Deltaopal	IAC 25	Nuopal	Deltaopal	IAC 25	Nuopal
<i>B. subtilis</i>	6,90 aA	7,34 aA	3,28 bB	3,38 aB	4,95 aA	4,15 aAB
Abamectina	6,30 aA	6,06 abA	6,10 aA	3,55 aA	4,25 abA	4,50 aA
Controle	4,98 aA	3,38 bA	4,95 abA	3,42 aA	3,20 bA	4,10 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Médias das massas das raízes frescas e da parte aérea seca de três genótipos de algodoeiro tratados com *Bacillus subtilis* e abamectina em função do local de cultivo (L1 e L2).

Tratamentos	Massa de raízes frescas (g/planta)		Massa da parte aérea seca (g/planta)	
	L1	L2	L1	L2
<i>B. subtilis</i>	6,48 ab	5,19 a	3,85 a	4,48 b
Abamectina	7,67 b	4,64 a	4,20 a	4,01 ab
Controle	5,31 a	3,82 a	4,11 a	3,04 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério

Tabela 3. Médias do número de nematoides nas raízes de três genótipos de algodoeiro, tratados com *Bacillus subtilis* e abamectina, cultivados em solos de diferentes localidades naturalmente infestados com nematoides.

Tratamentos	<i>Rotylenchulus reniformis</i> (formas ativas por g de raiz)			<i>Pratylenchus brachyurus</i> (formas ativas por g de raiz)		
	Deltaopal	IAC 25	Nuopal	Deltaopal	IAC 25	Nuopal
<i>B. subtilis</i>	25,09 aB	16,51 bB	62,42 abA	42,02 bA	46,05 aA	26,69 bA
Abamectina	25,60 aAB	18,54 bB	42,72 bA	46,63 bAB	55,62 aA	25,51 bB
Controle	51,68 aA	60,28 aA	82,84 aA	80,45 aA	50,02 aB	62,17 aAB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 4. Médias do número de nematoides nas raízes de três genótipos de algodoeiro, tratados com *Bacillus subtilis* e abamectina, em função do local de cultivo (L1 e L2).

Tratamentos	<i>Rotylenchulus reniformis</i> (formas ativas por g de raiz)		<i>Pratylenchus brachyurus</i> (formas ativas por g de raiz)	
	L1	L2	L1	L2
<i>B. subtilis</i>	15,48 a	53,87 b	32,55 a	43,96 b
Abamectina	16,96 a	40,94 b	29,00 a	56,17 b
Controle	26,96 a	102,90 a	44,15 a	84,27 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério.

Tabela 5. Médias do número de nematoides no solo nos tratamentos de três genótipos de algodoeiro, com *Bacillus subtilis* e abamectina, cultivados em solos de diferentes localidades naturalmente infestados com nematoides.

Tratamentos	Formas ativas/100 cm ³ de solo		
	Deltaopal	IAC 25	Nuopal
<i>B. subtilis</i>	200 bA	160 aA	200 aA
Abamectina	190 bA	160 aA	180 aA
Controle	290 aA	170 aB	250 aAB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 6. Médias do número de nematoides no solo nos tratamentos de três genótipos de algodoeiro, com *Bacillus subtilis* e abamectina, em função do local de cultivo.

Tratamentos	Formas ativas/100 cm ³ de solo	
	L1	L2
<i>B. subtilis</i>	166 a	206 b
Abamectina	140 a	213 b
Controle	153 a	320 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério

ocorreu quando se aplicaram os tratamentos *B. subtilis* e abamectina no algodoeiro cultivado no solo com maior infestação de nematoides (Tabela 6).

DISCUSSÃO

Nesse estudo observou-se que a avaliação foliar do teor de prolina livre pode ser útil na indicação do parasitismo dos nematoides nas raízes do algodoeiro. O genótipo Deltaopal, na ausência de tratamento, apresentou valores elevados de prolina e também teve grande incidência de nematoides nas raízes e no solo. Isso confirma o que foi relatado por Ghasempour *et al.* (2007). Segundo esses autores, a presença de *Heterodera schachtii* no solo e posterior infecção das raízes de beterraba pelo parasita pode funcionar como fator estressante, com efeito similar à falta de água, proporcionando aumento nos teores de prolina na planta. Doney *et al.* (1970) também relataram que *H. schachtii* induziu estresse nas plantas, associando esse efeito ao aumento de aminoácidos livres na seiva da beterraba.

Verificou-se que o genótipo IAC 25, resistente a nematoides, apresentou valores menores de prolina na maioria dos tratamentos. O mesmo efeito foi observado em relação a *P. brachyurus* e *R. reniformis*. No que se refere ao genótipo Nuopal, em alguns casos,

foram observados efeitos similares. Doney *et al.* (1970) avaliando a concentração de aminoácidos livres em genótipos de beterraba, cultivadas em solo infestado por *H. schachtii*, encontraram concentrações mais baixas de prolina nas plantas resistentes que naquelas suscetíveis. Aumentos dos teores de prolina foram detectados em tomateiro, tratado previamente com rizobactérias e cultivado em solo infestado com nematoides (Anita *et al.*, 2006). Os autores salientaram que as plantas tratadas apresentaram maior resistência aos nematoides. De forma semelhante, por causa da aplicação de nematicida, foram observados aumentos nos teores de prolina em cana-de-açúcar cultivada em solo infestado com nematoides (Showler *et al.*, 1991)

Resultados encontrados na literatura comprovam que a atividade da peroxidase está relacionada com a resistência de plantas à nematoides (Katsantonis *et al.*, 2005). Isto reforça a característica de resistência a nematoides indicada no genótipo IAC 25, pois esse genótipo expressou maior atividade dessa enzima quando cultivado, sem tratamento, no solo (L2) com maior infestação de nematoides. Foi observado também que apenas o genótipo Deltaopal apresentou baixa atividade de peroxidase em alguns tratamentos comparando-se com outros genótipos. Noel e Mc Clure (1978) relataram que genótipos de algodoeiro mais suscetíveis a nematoses foram caracterizados como de baixa atividade de peroxidase. Em solos infestados com nematoides a atividade da peroxidase chegou a dobrar em algodoeiro resistentes quando comparada a atividade observada nos genótipos suscetíveis (Zacheo *et al.*, 1993).

Segundo Calzavara *et al.* (2008), os danos fisiológicos e mecânicos provocados pelos nematoides levam à redução do crescimento das plantas em áreas infestadas. Destaca-se que nesse estudo foi feita a mesma constatação.

Apesar da existência de nematicidas para uso em algodoeiro, em alguns casos, não se observam diferenças em produção de matéria seca na parte aérea das plantas (Cabrera *et al.*, 2009). Entretanto, no trabalho aqui apresentado, o tratamento biológico com *B. subtilis* proporcionou maior crescimento da parte aérea das plantas cultivadas no solo que apresentava maior infestação de nematoides. O controle biológico pelo tratamento de sementes com *B. subtilis* também melhorou o crescimento do algodoeiro quando cultivado em solo infestado com *Meloidogyne* spp. (Higaki e Araujo, 2010). Segundo Anter *et al.* (1995), as populações de *R. reniformis* na cultura do algodoeiro foram reduzidas por *Bacillus* sp. a valores comparados àqueles alcançados pelo uso de nematicidas. De forma semelhante, Lovato *et al.* (2007) também constataram que a abamectina utilizada no tratamento de sementes de algodoeiro apresentou controle eficaz

de *R. reniformis* em experimento conduzido em casa de vegetação. Com relação a *P. brachyurus*, apenas no genótipo IAC 25, resistente a nematoides, observou-se que os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina não proporcionaram reduções significativas do número de nematoides nas raízes.

Maciel e Ferraz (1996) relataram que o controle biológico de nematoides pode acontecer pela paralisação do ciclo ou pela redução da capacidade reprodutiva do parasita. Adicionalmente, Freitas (2001) relatou que a transformação dos exsudatos radiculares em subprodutos pela ação dos micro-organismos pode fazer com que o nematoide não reconheça o estímulo quimiotrópico e continue movimentando no solo até morrer. Tem sido relatado também que o controle pode ocorrer pela indução sistêmica de resistência nas plantas, mediada pela bactéria no solo (Enebak e Carey, 2000); pela produção de proteases que degradam a cutícula dos nematoides e que interferem no ciclo do parasita (Lian *et al.*, 2007) e também pelos nematoides e seus ovos que podem servir como fonte de alimento para a bactéria (Khan *et al.*, 2005).

O controle biológico de nematoides ainda é pouco usado na agricultura mundial (Robinson, 2007). Nematicidas garantem a manutenção da produtividade porque reduzem os danos que os nematoides causam nas raízes (Koening *et al.*, 2007). Porém, esta prática está atrelada a efeitos ambientais e toxicológicos indesejáveis (Koening *et al.*, 2004). Por isso, faz-se necessário reduzir o impacto gerado pelo controle convencional de nematoides com a adoção de novas estratégias que podem ser incorporadas ao manejo integrado do parasita, a exemplo do controle biológico. Foi comprovado que a utilização de *B. subtilis* para o controle de nematoides em algodoeiro mostrou-se como estratégia promissora, podendo ser empregada em programas de controle desses patógenos na cultura. A rizobactéria conseguiu controlar os nematoides mais severos ao algodoeiro, confirmando o que já havia sido encontrado em outros estudos com avaliação espécies bacterianas biocontroladores de *R. reniformis* nessa cultura (Schmidt *et al.*, 2010; Jayakumar *et al.*, 2004). Apesar de existirem poucos estudos nessa área, o controle biológico de *P. brachyurus* por rizobactérias já foi descrito na literatura (Gonzaga e Santos, 2008) mostrando-se viável para uso na agricultura.

O uso da abamectina no tratamento de sementes é eficiente apenas para reduzir a infestação inicial de nematoides no solo (Cabrera *et al.*, 2009). Dessa forma, o controle biológico pode levar vantagem sobre o controle químico se for considerada a possibilidade de maior persistência da bactéria em comparação aos dos produtos químicos na rizosfera das plantas. Os ganhos no crescimento do algodoeiro e no controle de nematoides encontrados no genótipo IAC 25 quando inoculado com *B. subtilis* sugere que a junção dos métodos da resistência genética com o controle biológico seja promissora no manejo integrado de nematoides.

LITERATURA CITADA

- Anita, B., G. Rajendran, and R. Samiyappan, 2006. Defense mechanism in tomato treated with *Pseudomonas fluorescens* against *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. *Pest Management in Horticultural Ecosystems* 12:63-66.
- Anter, E. A., M. M. A. Elgawad, and A. H. Ali, 1995. Effects of fenamiphos and biocontrol agents on cotton growing in nematode-infested soil. *Anzeiger Fuer Schaedlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz* 68:12-14.
- Araújo, F. F., A. Henning, and M. Hungria, 2005. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 21:1639-1645.
- Araújo, F. F., and G. V. P. Marchesi. 2009. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. *Ciência Rural* 39:1558-1561.
- Asmus, G. L., and M. M. Inomoto, 2007. Manejo de nematoides. Pp 551-576 in Freire, E. C. Algodão no cerrado do Brasil. Brasília, DF.
- Bates, L. S., R. P. Waldren, and I. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
- Bowles, D. J. 1990. Defense-related proteins in higher plants. *Annual Review of Biochemistry* 59:873-907.
- Cabrera, J. A., S. Kiewnick C. Grimm, A. A. Dababat, and R. A. Sikora. 2009. Efficacy of abamectin seed treatment on *Pratylenchus zae*, *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 116:124-128.
- Calzavara, S. A., J. M. Santos, L. Favoreto, J. C. Barbosa, E. R. Borelli, and A. C. Generoso. 2008. Desenvolvimento de plantas jovens de citros infectadas por *Pratylenchus jaehni* (Nematoda: Pratylenchidae) em microparcels. *Nematologia Brasileira* 32:212-219.
- Cardoso, R. B. and F. F. Araújo. 2011. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose em cana de açúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15:1283-1288.
- Chen, C., R. R. Bélanger, N. Benhamou, and T. C. Paulitz. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 56:13-23.
- Coolen, W. A. and C. J. A D'Herde. 1972. Method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: nematology and entomology research station. 77.
- Doney, D. L., J. M. Life, and E. D. Whitney, 1970.

- The effect of the sugarbeet nematode *Heterodera schachtii* on the free amino acids in resistant and susceptible beta species. *Phytopathology* 60:1727-1729.
- Enebak, S. A. and W. A. Carey. 2000. Evidence for induced systemic protection to fusiform rust in loblolly pine by plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Disease* 84:306-308.
- Ferreira, D. F. 2003. Sisvar – versão 4.3. Lavras, MG: DEX/UFLA.
- Freire, E. C. (Ed.). 2007. Algodão no cerrado do Brasil. Brasília, DF: ABRAPA.
- Freitas, L. G. 2001. Rizobactérias versus nematoides. Acesso em: abr. 2010. On line. Disponível em: <http://www.ufv.br/dpf/labnematologia/rizo.pdf>.
- Galbieri, R., M. G. Fuzatto, E. Cia, R. R. Lüders, A. C. Z. Machado, and A. F. Boldt. 2009. Reação de cultivares de algodoeiro a *Meloidogyne incognita* em condições de campo e casa de vegetação no estado de Mato Grosso. *Tropical Plant Pathology* 34:18-23
- Ghasempour, H. R., A. A. Hojatjalali, and A. R. Rangin. 2007. Physiological changes, proline, total protein, protein analysis and potassium of the sugar beet plants in response to beet cyst nematodes, *Heterodera schachtii*. *International Journal of Botany* 3:91- 96.
- Gonzaga, V. and J. M. Santos. 2008. Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaei*. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, Brasília, DF.
- Higaki, W. A. and F. F. Araujo. 2010. Parasitismo de nematoides em cultivares de algodoeiro em função do tratamento de sementes com *Bacillus subtilis*. in XV ENAPI, P. Prudente. encontro de ensino pesquisa e extensão. P. Prudente : Unoeste 1:1059-1059.
- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (IBGE), 2010. Levantamento sistemático de Produção Agrícola. Disponível Em: <http://www.ibge.gov.br/> acesso em 07 jul de 2011.
- Inomoto, M. M. 2001. Algodoeiro atacado por nematoides. cultivar, Pelotas. 3, 30:5-7.
- Jayakumar, J., S. Ramakrishnan, and G. Rajendran. 2004. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* strains isolated from cotton rhizosphere against *Rotylenchulus reniformis*. *SAARC Journal of Agriculture* 2:153-156.
- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematode from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692-693.
- Katsantonis , D., R. J. Hillocks, and S. Gowen. 2005. Enhancement of germination of spores of *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum* f.sp. vasinfectum in vascular fluid from cotton plants infected with the root-knot nematode. *Phytoparasitica* 33:215-224.
- Khan, M. R., S. M. Khan, and F. Mohide. 2005. Root-knot nematode problem of some winter ornamental plants and its biomanagement. *Journal of Nematology* 37:198-206.
- Koenning, S. R., T. L. Kirkpatrick, J. L. Starr, N. A. Walker, J. Wrather, and J. D. Mueller. 2004. Plant-parasitic nematodes attacking cotton in the US: old and emerging problems. *Plant Disease* 88:100–113.
- Koenning, S. R., D. E. Morrison, and K. L. Edmisten. 2007. Relative efficacy of selected nematicides for management of *Rotylenchulus reniformis* in cotton. *Nematropica* 37:227-235.
- Li, B., G. Xie, A. Soad, and J. Coosemans. 2005. Suppression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal Zhejiang University Science* 6:496-501.
- Lian, L. H., B. Y. Tian, M. Z. Xiong, M. Z. Zhu, J. Xu and K. Zhang. 2007. Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. *Letters in Applied Microbiology* 45:262- 269.
- Lovato, B. V., A. C. Nascimento Junior, N. F. Buzzerio, and L. Martinho. 2007. Eficiência do nematicida abamectina (avicta® 500 fs) para o controle de *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) através do tratamento de sementes. In: Congresso Brasileiro de algodão, 6., 2007, Uberlândia, anais... Uberlândia.
- Maciel, S. L. and L. C. C. B. Ferraz. 1996. Reprodução de *Meloidogne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. *Scientia Agricola* 53:956-960
- Noel, G. R. and M. A. McClure 1978. Peroxidase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in resistant and susceptible cotton infected by *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 10:34-39
- Padilha, T. and C.A. Samuell. 2000. Fungos nematófagos na redução da disponibilidade de larvas infectantes de nematoides trichostrongilídeos. In Melo, I. S. de; Azevedo, J. L. de. (eds.). Controle Biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.
- Ramamoorthy, V., T. Viswanathan, V. Raguchander, V. Prakasam, and R. Semiyappan. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants pest and diseases. *Crop Protection* 20:1-11.
- Robinson, A. F. 2007. Reniform in the U.S. cotton: When, where, why, and some remedies. *Annual Review of Phytopathology* 45: 263-288.
- Ruano, O. 1997. Controle de doenças causadas por nematoides. 2. UFV, Departamento De Fitopatologia, Brasília, Distrito Federal: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: 583-610.
- Schmidt, L. M., T. E. Hewlett, A. Green, L. J. Simmons, K. Kelley, M. Doroh, and S. R. Stetina. 2010. Molecular and morphological characterization and biological control capabilities of a *Pasteuria* ssp. parasitizing *Rotylenchulus reniformis*, the reniform nematode *Journal of Nematology* 42:207-217.

- Shewry, P. R. and J. A. Lucas. 1997. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. *Advance in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology* 26:135-192.
- Showler, A. T., T. E. Reagan, and J. L. Flynn. 1991. Augmentation and aldicarb treatment of nematodes in selected sugarcane weed habitats. *Journal of Nematology* 23:717-723.
- Siddiqui, Z. A., A. Iqbal, and I. Mahmood. 2001. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Applied Soil Ecology* 16:179-185.
- Tihohod, D. 2000. *Nematologia Agricola Aplicada*. Jaboticabal: Funep. 372p.
- Zacheo, C., C. Orlando, and T. Bleve-Zacheo. 1993. Characterization of anionic peroxidases in tomato isolines infected by *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 25:249-256.

Received:

5/III/2012

Accepted for publication:

30/V/2012

Recibido:

Aceptado para publicación: