

INTRODUÇÃO

Os nematoides causadores das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, são considerados os mais importantes dentre os fitopatogênicos. Isto se deve aos fatos de possuírem ampla distribuição geográfica e apresentarem extensa gama de hospedeiros, dentre eles, diversas culturas de importância econômica como o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Estas pragas podem limitar a produção da cultura devido à sua ação parasítica sobre as raízes, reduzindo a absorção de água e de nutrientes, além de causarem perdas que podem variar de 40-90% (Simão *et al.*, 2005).

No Brasil, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood é considerada uma das principais espécies nos cultivos de feijão devido à sua alta incidência, principalmente em regiões com predominância de temperaturas elevadas. O declínio na produtividade desta leguminosa está geralmente relacionado à ocorrência deste nematoide (Pedrosa *et al.*, 2000). Desta forma, buscam-se estratégias de manejo que aumentem a produção, diminuam os custos, e não agridam o ambiente. Com base nisso, o uso da rotação de culturas e de variedades resistentes têm sido aquelas mais indicadas. No entanto, no Brasil, apenas algumas cultivares apresentam resistência moderada, sem, entretanto, reduzirem satisfatoriamente a reprodução do nematoide (Pedrosa *et al.*, 2000; Simão *et al.*, 2005).

Assim, o controle biológico surge como uma tática a ser empregada juntamente, com as variedades resistentes, buscando-se o manejo integrado de fitonematoides, uma vez que microrganismos biocontroladores reduzem a população destes nematoides e mantêm a biodiversidade do solo (Freitas, 2003). Segundo este autor, dentre os agentes de controle biológico estudados, as rizobactérias se destacam, uma vez que apresentam potencial para supressividade de patógenos habitantes do solo, como é o caso dos fitonematoides. Entre suas características antagonísticas estão: a capacidade de limitar a penetração dos nematoides nas raízes; a produção de enzimas e de substâncias tóxicas (Lian *et al.*, 2007); a alteração dos exsudatos radiculares, interferindo na atração dos nematoides às raízes e na eclosão dos ovos (Coimbra *et al.*, 2005; Campos *et al.*, 2006); a indução de resistência da planta ao nematoide (Oostendorp e Sikora, 1990), e a promoção do crescimento vegetal (Kloepper *et al.*, 1990).

Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial da microbiolização de sementes de feijão com rizobactérias biocontroladoras do cretamento bacteriano e da antracnose, individualmente ou em combinação, no biocontrole de *M. incognita*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Nematologia da Embrapa Clima

Temperado e no Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas.

O inóculo foi obtido de uma população pura de *M. incognita* (Raça 1; fenótipo I2 de α -esterase) mantida em tomateiro 'Santa Cruz', em vasos com solo autoclavado, mantidos em casa de vegetação. Os ovos, utilizados para os testes *in vitro* e *in vivo*, foram extraídos de raízes de tomateiros, conforme técnica descrita por Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz (1981). Parte da suspensão dos ovos foi incubada a 26°C em funil de Baermann modificado (Christie e Perry, 1951), para obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2) utilizados nos testes *in vitro*.

Reação de Genótipos de Feijoeiro a *Meloidogyne incognita*

Sete genótipos de feijoeiro ('Carioca', 'BRS Expedito', 'BR IPAGRO 1 Macanudo', 'BR IPAGRO 3 Minuano', 'BRS Valente', 'TB 9820' e 'TB 0202') foram avaliados quanto à resistência a *M. incognita*. Para tanto, plantas de feijão foram mantidas individualmente em vaso com solo esterilizado, em casa de vegetação e inoculadas com 5.000 ovos + J2 de *M. incognita* 10 dias após a semeadura. Como testemunhas, plantas de tomate 'Santa Cruz' receberam a mesma quantidade de inóculo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições.

Decorridos 60 dias da inoculação, as raízes de cada planta foram separadas da parte aérea, lavadas e avaliadas quanto ao número de galhas (NG) por sistema radicular. O sistema radicular de cada planta foi triturado em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio 0,5% para extração dos ovos do nematoide (Hussey e Barker, 1973) e posterior quantificação em câmara de Peters, sob microscópio ótico. A partir do número de ovos/sistema radicular, procedeu-se ao cálculo do fator de reprodução (FR=população final/população inicial) de *M. incognita* em cada repetição. A resistência dos genótipos de feijoeiro foi avaliada pelo fator de reprodução do nematoide: FR > 1.0, suscetível e FR < 1.0, resistente (Oostenbrink, 1966). A seguir, os valores das variáveis avaliadas foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de agrupamento de Scott Knott ($\alpha=0,05$) utilizando-se o software SASM-Agri (Canteri *et al.*, 2001). As análises estatísticas do FR foram usadas para diferenciar a reação das plantas a *M. incognita*: resistente, suscetível e moderadamente suscetível.

Avaliação do Biocontrole de *Meloidogyne incognita* in vitro

Utilizaram-se as rizobactérias DFs093 e DFs769 (*Bacillus cereus* Frankland & Frankland), DFs348 (*Bacillus* sp. Cohn), DFs513 (*Pseudomonas veronii*

Elomari), DFs831 e DFs842 (*P. fluorescens* Migula), DFs843 e DFs912 (*Rhodococcus fascians* (Tilford) Goodfellow), pertencentes à coleção do Laboratório de Bacteriologia Vegetal do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, previamente selecionadas para biocontrole de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Dye (Zanatta *et al.*, 2007) e *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) (Corrêa *et al.*, 2008).

As suspensões bacterianas foram obtidas a partir do cultivo de cada rizobactéria em meio 523 de Kado e Heskett (1970) por 24 horas. Logo após, foram preparadas suspensões com solução salina (NaCl 0,85%) para cada uma das rizobactérias, ajustando-se as concentrações para A540=0,50 em espectrofotômetro. As combinações foram constituídas pela mistura de 20 mL de suspensão de cada uma das rizobactérias preparadas separadamente em concentrações ajustadas para A540=0,50. As combinações utilizadas foram as seguintes: C01= DFs093/DFs769/DFs831; C02= DFs093/ DFs769/DFs842 e C03= DFs348/DFs769/DFs831.

Para avaliar o efeito dos tratamentos bacterianos sobre a eclosão de juvenis, foram depositados 30 ovos de *M. incognita* em cada cavidade de uma placa de microtitulação (tipo ELISA) contendo 50 µL de água destilada esterilizada. Posteriormente, foram adicionados 50 µL de suspensão de cada um dos tratamentos bacterianos em cada cavidade da placa. Como tratamentos testemunha, foram utilizados 30 ovos depositados em 50 µL de água destilada esterilizada e em 50µL de solução salina (NaCl 0,85%). A seguir, as placas foram vedadas com filme de PVC e papel alumínio e incubadas a 26°C por 12 dias, após os quais, avaliou-se, sob microscópio estereoscópico, o número de J2 eclodidos.

Para avaliar o efeito das rizobactérias sobre a motilidade dos juvenis, foi conduzido ensaio similar ao de eclosão, porém ao invés de ovos, utilizaram-se 30 J2 do nematoide. Avaliou-se a motilidade dos J2 após 24 h de incubação, adicionando-se 10 µL de solução de NaOH 1N (Chen e Dickson, 2000) em cada cavidade, considerando-se imóveis, os J2 que permaneceram com o corpo completamente distendido nos 30 segundos posteriores à adição.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo estas representadas por cada cavidade da placa de microtitulação. Os valores de eclosão de ovos e de motilidade de J2 foram transformados para $\sqrt{x+1}$. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias de cada tratamento comparadas pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$), utilizando-se o software SASM-Agri (Canteri *et al.*, 2001).

Efeito de Exsudatos radiculares de plântulas de feijão

sobre a eclosão e motilidade de J2 de Meloidogyne incognita in vitro

Sementes de feijoeiro 'BRS Valente' foram microbiolizadas (10°C/5h), por imersão com agitação nas suspensões de cada um dos tratamentos, preparadas conforme descrito anteriormente. Como testemunhas, foram utilizadas sementes imersas em solução salina (NaCl 0,85%). Logo após, foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido (75 alvéolos), previamente lavadas e desinfestadas, conteúdo areia autoclavada.

Decorridos oito dias da emergência, as plântulas foram retiradas das bandejas e as raízes foram lavadas em água destilada esterilizada. Foram cortados os sistemas radiculares de 30 plântulas de cada tratamento, acondicionados em tubos plásticos e submetidos à centrifugação (Campos *et al.*, 2006). Alíquotas do sobrenadante foram recolhidas e armazenadas em freezer até o momento da sua utilização.

O efeito dos exsudatos radiculares sobre a eclosão e motilidade dos J2 de *M. incognita* foi avaliado de forma similar ao ensaio descrito anteriormente, porém utilizando-se 20 µL de água destilada esterilizada aos quais foram adicionados 30 ovos ou 30 J2 do nematoide e 80 µL dos diferentes exsudatos individualmente. Como testemunha, utilizou-se o exsudato de plantas oriundas de sementes tratadas com solução salina.

Avaliação do Biocontrole de Meloidogyne incognita in vivo

Sementes da cultivar BRS Valente, moderadamente suscetível, foram microbiolizadas conforme descrito anteriormente. O ensaio foi conduzido de forma similar ao realizado para avaliar a reação dos genótipos de feijoeiro ao nematoide. Foram contadas as vagens formadas após 55 dias da inoculação (NV) e determinadas as massas frescas da parte aérea (MFA), das vagens (MFV) e das raízes (MFR).

O número de galhas (transformado para $\sqrt{x+1}$), o fator de reprodução do nematoide, o número de vagens e as massas frescas da parte aérea, das vagens e dos sistemas radiculares foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$), utilizando-se o software SASM-Agri (Canteri *et al.*, 2001). Os resultados foram expressos em porcentagem de controle em relação às testemunhas.

RESULTADOS

Todos os genótipos de feijoeiro apresentaram menor número de galhas que as plantas de tomate (testemunha), sendo as maiores reduções observadas em 'BR IPAGRO 1 Macanudo', 'BR IPAGRO 3

Tabela 1 - Reação de genótipos de feijoeiro a *Meloidogyne incognita* expressa em número de galhas por sistema radicular (NG) e fator de reprodução (FR).

Genótipos	NG	FR	Reação ^y
Tomateiro 'Santa Cruz' (testemunha)	201,6a ^x	9,3a	S
'BRS Expedito'	82,0b	11,1a	S
'TB 9820'	113,8b	12,1a	S
'TB 0202'	99,6b	15,6a	S
'BR IPAGRO 1 Macanudo'	64,0c	12,8a	S
'BR IPAGRO 3 Minuano'	74,2c	12,8a	S
'BRS Valente'	32,4c	7,5b	MS
'Carioca'	21,2c	3,3b	MS
CV (%) ^z	74,3	44,1	

^xMédias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

^yS= suscetível; MS= moderadamente suscetível.

^zCoefficiente de variação dos valores transformados para $\sqrt{x+1}$.

Tabela 2 – Porcentagem de eclosão e de motilidade de J2 de *Meloidogyne incognita*, após 12 dias e 24 horas, respectivamente, de exposição aos tratamentos bacterianos *in vitro*.

Tratamentos	Eclosão (%)	Nematoides Imóveis (%)
DFs093	43,2bcd ^y	26,7e
DFs513	17,7e	40,0d
DFs769	47,2bcd	43,0d
DFs831	55,0abc	44,2d
DFs842	68,7ab	61,5c
DFs843	42,2cd	82,5ab
DFs912	50,5bcd	93,0a
C01 (DFs093/DFs769/DFs83)	40,5cd	85,0ab
C02 (DFs093/DFs769/DFs842)	52,0bc	71,5bc
C03 (DFs348/DFs769 DFs831)	30,2de	79,5ab
Testemunha	79,2a	0,0f
CV (%) ^z	14,5	7,0

^yMédias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

^zCoefficiente de variação dos valores transformados para $\sqrt{x+1}$.

Minuano', 'BRS Valente' e 'Carioca' (68, 63, 84 e 89% respectivamente). Quando se avaliou o fator de reprodução do nematoide, observou-se que os genótipos 'Carioca' e 'BRS Valente' apresentaram reação moderadamente suscetível (MS), diferindo da testemunha (Tabela 1). Os demais foram suscetíveis (S). Assim, selecionou-se a cultivar BRS Valente para os ensaios subsequentes. O critério utilizado para a seleção da cultivar foi a reação ao nematoide (MS) e sua ampla utilização pelos agricultores

Foi observado que com exceção dos isolados

DFs831 e DFs842, os demais todos os tratamentos bacterianos possibilitaram redução significativa da porcentagem de eclosão dos J2 de *M. incognita* em comparação com a testemunha (Tabela 2). Maior impacto sobre a eclosão dos J2 foi proporcionado por DFs513 e C03, atingindo, respectivamente, 78 e 62% de redução da eclosão em relação à testemunha.

Quando se avaliou o efeito dos tratamentos bacterianos sobre a motilidade dos J2 de *M. incognita* (Tabela 2), verificou-se que todos os tratamentos reduziram significativamente a porcentagem

Tabela 3 - Porcentagem de eclosão e de motilidade de *Meloidogyne incognita* após a exposição de ovos e de J2, respectivamente, aos exsudatos extraídos de raízes de plântulas oriundas de sementes de feijão microbiolizadas com tratamentos bacterianos *in vitro*.

Tratamentos	Eclosão (%)	Nematoides Imóveis (%)
DFs093	0,8ab ^y	12,5e
DFs513	0,0b	25,0cd
DFs769	3,3a	45,0ab
DFs831	0,0b	42,6b
DFs842	0,0b	42,9b
DFs843	0,0b	19,1de
DFs912	0,8ab	9,8e
C01 (DFs093/DFs769/DFs831)	2,4a	15,4e
C02 (DFs093/DFs769/DFs842)	0,8ab	45,1ab
C03 (DFs348/DFs769 DFs831)	0,8ab	53,6a
Testemunha	0,8ab	12,5e
CV (%) ^z	186,4	19,5

^yMédias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

^zCoefficiente de variação dos valores transformados para $\sqrt{x+1}$.

Tabela 4 - Massas frescas (g) da parte aérea (MFA), do sistema radicular (MFR) e das vagens (MFV), número de vagens (NV), número de galhas por sistema radicular (NG) e fator de reprodução (FR) em plantas de feijão cv. BRS Valente, originadas de sementes microbiolizadas com bactérias e inoculadas com *Meloidogyne incognita* em casa de vegetação.

Tratamentos	MFA (g)	MFR (g)	MFV (g)	NV	NG	FR
DFs093	22,4ax	18,6bcd	1,5c	1,0b	96,1c	2,0bc
DFs513	16,0bc	16,4cd	2,0bc	1,4b	107,4c	0,9ef
DFs769	15,6bc	16,0cd	1,3c	1,8b	44,2e	0,6f
DFs831	9,9d	15,0d	0,0c	0,0b	14,2g	0,2g
DFs842	17,3b	19,1bc	8,9a	6,1a	59,1d	1,6cd
DFs843	11,1cd	15,5cd	2,6bc	1,7b	28,1f	1,3de
DFs912	8,8d	19,6bc	2,0bc	1,7b	133,7b	2,1b
C01 (DFs093/DFs769/DFs831)	23,5a	26,2a	6,8ab	5,4a	88,1c	1,0e
C02 (DFs093/DFs769/DFs842)	13,9bcd	21,2b	1,5c	1,4b	145,2b	1,1e
C03 (DFs348/DFs769 DFs831)	10,1d	19,6bc	1,4c	1,0b	52,8de	1,1e
Testemunha	9,4d	19,3bc	0,2c	0,8b	175,2a	4,7a
CV (%) ^x	32,1	17,6	164,8	124,5	10,2*	22,5

^yMédias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

^zCoefficiente de variação dos valores transformados para $\sqrt{x+1}$.

de J2 móveis, sendo que maior imobilidade foi proporcionadas por DFs912, C01, DFs843 e C03.

De maneira geral, com os ensaios *in vitro*, observou-se que os tratamentos bacterianos foram capazes, embora em diferentes intensidades, de atuar diretamente sobre a eclosão e ou motilidade dos J2 de *M. incognita*. No entanto, a combinação C03 foi o

tratamento que se destacou para ambos os aspectos avaliados.

Na avaliação da eclosão de J2 expostos aos exsudatos radiculares extraídos de plântulas microbiolizadas com rizobactérias, observou-se que as porcentagens de eclosão foram baixas, variando de 0 a 3,3%, associadas a um alto coeficiente de variação

(186,4) (Tabela. 3). Por outro lado, observou-se que seis dos dez tratamentos proporcionaram maiores porcentagens de J2 imóveis, sendo as combinações C03 e C02 (53,6 e 45,1%) e a rizobactéria DFs769 (45%) aqueles que se destacaram quanto à redução da motilidade.

A microbiolização das sementes resultou em aumento da massa fresca da parte aérea (5,3 a 150%) em relação às plantas provenientes de sementes não microbiolizadas e inoculadas com o nematoide (testemunha) (Tabela 4). Entre os tratamentos significativamente superiores, encontraram-se a combinação C01, seguida da rizobactéria DFs842, com respectivamente 150,0 e 84% de aumento. Observou-se que as rizobactérias usadas na combinação C01, quando utilizados individualmente, tiveram comportamento diferenciado. A rizobactéria DFs093 incrementou em 38%; DFs769 e DFs831 aumentaram em 66% e 5,3%, respectivamente.

Somente a combinação C01 resultou em ganho significativo da massa fresca do sistema radicular, proporcionando aumento de 34,7 em relação à testemunha. Individualmente, para as bactérias que compõem esta combinação, os valores foram similares ou inferiores àqueles alcançados pela testemunha.

Para as variáveis número e peso de vagens, não houve diferença significativa entre a maioria dos tratamentos. Entretanto, a rizobactéria DFs842 e a combinação C01 diferiram da testemunha para as duas variáveis.

Com relação ao efeito da microbiolização das sementes com rizobactérias no controle de *M. incognita*, todos os tratamentos reduziram as variáveis avaliadas (Tabela 4). O número de galhas foi reduzido, (entre 18 e 92%), sendo os tratamentos DFs831 e DFs843 os que se destacaram (92 e 83% respectivamente). A multiplicação do nematoide, representada pelo FR, foi reduzida significativamente por todos os tratamentos, sendo que a rizobactéria DFs831 se destacou, resultando em FR = 0,2 (redução de 94% em relação a testemunha). Outras rizobactérias e as combinações promoveram reduções que variaram de 55 a 80%.

DISCUSSÃO

Considerando o biocontrole de *M. incognita* e a promoção de crescimento, observou-se que a combinação C01 foi o tratamento que proporcionou ganhos significativos para ambos os aspectos.

O ganho de massa radicular, em plantas inoculadas com o nematoide das galhas, muitas vezes é atribuído não à promoção de crescimento, mas ao aumento no volume celular. Esse aumento é resultante das mudanças neoplásticas no sistema radicular, ocasionados pela infecção por espécies de *Meloidogyne* (Tihohod, 1993). Segundo este autor, em muitos casos, um número anormal de raízes laterais

prolifera das galhas, ocasionando um maior volume radicular. No entanto, no presente trabalho o ganho proporcionado pelo tratamento C01 não pode ser assim explicado, uma vez que teve um número reduzido de galhas. Adicionalmente, o ganho de massa radicular pode ser explicado, pelo menos em parte, pelo maior crescimento da parte aérea, possivelmente em virtude de mecanismos promotores que as bactérias componentes da combinação possuem.

Por outro lado, observou-se que as rizobactérias DFs769 e DFs831 proporcionaram controle do patógeno. Entretanto, observou-se que o controle foi associado a pouco ou nenhum aumento das massas frescas da parte aérea e de raízes, ou ainda, a valores inferiores aos proporcionados pela testemunha. O fato pode ser explicado devido ao possível deslocamento de energia do crescimento para a proteção da planta contra o patógeno (Stadnik e Buchenauer, 1999).

O controle biológico de nematoses por bactérias vem sendo estudado há alguns anos. A maioria dos trabalhos utiliza bactérias isoladamente e, de modo geral, observa controle significativo em termos de redução do número de galhas e, ou da reprodução do nematoide (número de ovos e/ou fator de reprodução). No entanto, nem sempre esse controle resulta em crescimento vegetal superior ao da testemunha inoculada. Este fato é relatado para controle por *B. subtilis* Cohn. em plantas de algodão, amendoim e beterraba açucareira inoculadas com *Meloidogyne* sp. e *Rotylenchulus* sp. Linford & Oliveira (Sikora, 1988). Fato semelhante foi observado quando a bactéria *Rhizobium etli* Frank., conhecida como promotora de crescimento foi avaliada para controlar *M. incognita* e *M. javanica* (Fabry *et al.*, 2008).

O uso de combinação de biocontroladores constitui-se numa forma de alcançar o controle de nematoses e o crescimento vegetal, como mostram os resultados obtidos no presente trabalho. Esta estratégia também foi explorada com sucesso por Muthulakshmi *et al.* (2010), combinando *Trichoderma viride* Pers. e *P. fluorescens* quando conseguiram aumentos de 48 e 46%, respectivamente, no número de ramos e de folhas de amoreira, além de reduzir em torno de 50% a população do nematoide/g solo e de 37% o número de ovos de *M. incognita*. De forma semelhante, Resultados semelhantes foram obtidos por Souza-Júnior *et al.* (2010), avaliaram combinações entre rizobactérias (espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus*) para o controle de *M. graminicola* Golden & Birchfield em plantas de arroz e obtiveram percentuais de controle do nematoide que variaram entre 49 e 57%, além de terem conseguido aumentar a área foliar entre 17 e 38%.

O uso de combinações de biocontroladores, geralmente, resulta em comportamento estável por explorar conjuntamente a diversidade de mecanismos de ação que os agentes possuem de forma isolada (Guetsky *et al.*, 2002). No presente trabalho, observou-se que, individualmente, as rizobactérias DFs769 (*B.*

cereus) e DFs831 (*P. fluorescens*) proporcionaram as menores reproduções de *M. incognita* e DFs831, o menor número de galhas. Por outro lado, quando se combinaram estas rizobactérias com diferentes isolados de *Bacillus* (DFs093 e DFs348) para obter as combinações C01 e C03 respectivamente, observou-se o melhor comportamento biocontrolador/promotor de crescimento e os menores valores de eclosão e motilidade de J2.

As reduções de eclosão e de motilidade *in vitro*, observadas no presente trabalho, são relatadas para espécies de *Meloidogyne* (Fabry *et al.*, 2007; Padgham e Sikora, 2007). Os mecanismos de ação atribuídos a estes biocontroladores incluem atividade quitinolítica, proteolítica e amilolítica (Padgham e Sikora, 2007), bem como pela ação direta de compostos tóxicos (Kerry, 2000). Portanto, é possível supor que as rizobactérias aqui utilizadas atuem por diferentes mecanismos e que, quando combinadas, possam apresentar um comportamento superior ao obtido nas avaliações de forma individualizada, como verificado *in vitro* para a combinação C03 e *in vivo* para C01.

Adicionalmente, observou-se, no presente trabalho, que os exsudatos radiculares de plântulas originadas de sementes que receberam tratamentos bacterianos reduziram a motilidade de J2 de *M. incognita*. Esse comportamento foi observado, principalmente, para a rizobactéria DFs769 e para a combinação C03. Uma das hipóteses que explica esses resultados seria a capacidade de as bactérias colonizarem efetivamente as raízes, podendo alterar a composição dos exsudatos radiculares, promovendo a produção de compostos tóxicos que afetariam *in vitro* o nematoide como aventado por Araújo *et al.* (2002).

Por outro lado, *in vivo* os mecanismos podem ser: i) as rizobactérias poderiam degradar os exsudatos radiculares que funcionam como fator de eclosão para muitas espécies de nematoides (Oostendorp e Sikora, 1990); ii) as rizobactérias transformariam os exsudatos radiculares em subprodutos, fazendo com que o nematoide não reconhecesse o estímulo quimiotrópico, movimentando-se aleatoriamente até esgotar suas reservas de energia e morresse sem penetrar a raiz; iii) produtos bacterianos poderiam reduzir a motilidade do nematoide a ponto de impedir que este atingisse a raiz, e iv) substâncias tóxicas ou repelentes, produzidas pelas rizobactérias poderiam desestimular a penetração de nematoides endoparasitas na planta hospedeira, ou mesmo a alimentação de nematoides ectoparasitas (Freitas, 2003).

Desta forma, pode-se dizer que existe potencial para a utilização do controle biológico por meio da microbiolização das sementes com combinações de rizobactérias, principalmente quando se considera o plantio de cultivares com pouca ou nenhuma resistência a *M. incognita*, além das limitações associadas ao uso do controle químico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio financeiro concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes/Brasil) e ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica (CNPq/Brasil) pela concessão da Bolsa de Produtividade a um dos autores.

LITERATURA CITADA

- Araújo, F. F., J. F. V. Silva, and A. S. F. Araújo. 2002. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. *Ciência Rural* 32:197-203.
- Bonetti, J. I. S.; and S. Ferraz. 1981. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília 6 553.
- Campos, H. D., V. P., Campos, and J. L. Coimbra. 2006. Efeito de exsudato radicular de *Brachiaria decumbens* e do sorgoleone de *Sorghum bicolor* no desenvolvimento de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 30:59-65.
- Canteri, M. G., R. A., Althaus, J. S., Virgens Filho, E. A., Giglioti, and C. V., Godoy. 2001. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação* 1:18-24.
- Chen, S. Y., and D. W., Dickson. 2000. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 32:117-121.
- Christie, J. R., and V. G. Perry. 1951. Removing nematodes from soil. *Proceedings of Helminthological Society of Washington* 18: 106-108.
- Coimbra, J. L., V. P., Campos, and R., Souza, R. 2005. Rizobactérias antagonistas a *Meloidogyne javanica*. *Magistra* 17:88-95.
- Corrêa, B. O., A. B., Moura, N. A., Denardin, V. N., Soares, J. T., Schäfer, and J., Ludwig. 2008. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac e Magn.). *Revista Brasileira de Sementes* 30:156-163.
- Fabry, C. F. S., L. G. Freitas, W. S. Neves, M. M., Coutinho, M. R., Totola, Jr., Oliveira, R. D. Giarretta, and S. Ferraz. 2007. Obtenção de bactérias para o biocontrole de *Meloidogyne javanica* por meio de aquecimento de solo e tratamento com filtrado de raízes de plantas antagonistas a fitonematoides. *Fitopatologia Brasileira* 32:79-82.
- Fabry, C. F. S., L. G. Freitas, E. A., Lopes, W. S. Neves, R. Dallemole-Giarretta, and S. Ferraz. 2008. Efeito da aplicação de húmus e *Rhizobium*

- etli* sobre *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*. *Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas* 2: 3-7.
- Freitas, L. G. 2003. Controle biológico dentro do contexto de manejo integrado de nematoides. *Fitopatologia Brasileira* 28:24-30, 2003.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. Elad, and A. Dinor. 2002. Improving biological control by combining biocontrol agents with several mechanisms of disease suppression. *Phytopathology* 92:976-985
- Hussey, R. S. and K. R., Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inoculation of *Meloidogyne* species, including a new technique. *Plant Disease Report* 57:1025-1028.
- Kado, C. I and M. S. Heskett. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969-976.
- Kerry, B. R. 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 38:423-441.
- Kloepper, J. W., M. N. Schroth, and T. D. Miller. 1990. Effects of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology* 70:1078-1082.
- Lian, L. H., B. Y. Tian, R., Xiong, M. Z. Zhu, J. Xu, and K. Q., 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.
- Muthulakshmi, M., K., Devrajan and E. I. Jonathan. 2010. Biocontrol of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in mulberry (*Morus alba* L.). *Journal of Biopesticides* 3 479-482.
- Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen* 66:1-46.
- Oostendorp, M., and R. A. Sikora. 1990. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Revue Nématologie* 13:269-274.
- Padgham, J. L. and R. A. Sikora, 2007. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. *Crop Protection* 26:971- 977.
- Pedrosa, E. M. R., R.M. Moura, and E.G. Silva. 2000. Respostas de genótipos de *Phaseolus vulgaris* à meloidoginose e alguns mecanismos envolvidos na reação. *Fitopatologia Brasileira* 25:190-196.
- Sikora, R. A. 1988. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.* 53:867-878.
- Simão, G., M. Homechin, D.C. Santiago, R. T. V. Silva, and E. R. Ribeiro. 2005. Comportamento de duas cultivares de feijoeiro em relação à *Meloidogyne incognita*. *Ciência Rural* 35:266-270.
- Souza-Júnior, I. T., A. B. Moura, B. O. Corrêa, J. T. Schafer, and C.B.Gomes. 2010. Combinação de rizobactérias no biocontrole da queima das bainhas e do nematoide das galhas e na promoção de crescimento de plantas de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45:1259-1267.
- Stadnik, M. J., and H. Buchenauer. 1999. Control of wheat diseases by a benzothiadiazole-derivate and modern fungicides. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 106:476-489.
- Tihohod, D. 1993. *Nematologia agrícola aplicada*. Jaboticabal: FUNEP, 372p.
- Zanatta, Z. G. C. N., A. B. Moura, L. C. Maia, and A. S. Santos. 2007. Bioassay for selection of biocontroller bacteria against bean common blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*). *Brazilian Journal of Microbiology* 38:511-515.

Received:

30/III/2012

Accepted for publication:

8/XI/2012

Recibido:

Aceptado para publicación: