

**Potencial de *Bacillus aryabhatai* para o controle de *Meloidogyne incognita* na cultura do milho**

**Potential of *Bacillus aryabhatai* to control *Meloidogyne incognita* in maize crop**

Ornelle C. N. Ndoung & Maria A. dos Santos

**Resumo**

Os nematoides podem causar perdas de até 40% da produtividade na cultura do milho. Uma alternativa de controle é através o uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs). Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar se a bactéria *Bacillus aryabhatai* tem potencial para controle de *Meloidogyne incognita* em milho. Dois ensaios foram conduzidos com delineamento inteiramente casualizado e com 10 repetições, num esquema fatorial de 2x2x2, no primeiro ensaio: com ou sem nematoide, com ou sem *B. aryabhatai*, e com ou sem estresse hídrico. O segundo ensaio: com ou sem nematoides, aplicação da *B. aryabhatai* via semente ou via sulco de plantio, com ou sem estresse hídrico. Sessenta dias após inoculação do *M. incognita* foram avaliados os parâmetros de crescimento vegetativo e a população do nematoide. A bactéria *Bacillus aryabhatai* não reduziu a reprodução de *Meloidogyne incognita*. No entanto, a aplicação via sulco de plantio proporcionou maior supressão do nematoide, em comparação à aplicação via sementes. A bactéria *Bacillus aryabhatai* proporcionou aumento na altura e no diâmetro do colmo em condições de estresse hídrico. O estresse hídrico de 30% reduziu o crescimento vegetativo das plantas.

**Palavras chave** : nematoide de galhas, rizobactéria , estresse hídrico, *Zea mays*, tratamento de sementes

**Abstract**

Nematodes can cause up to 40% loss in maize yield. An alternative control is through the use of plant growth-promoting bacteria (PGPB). Thus, the present study aimed at testing the potential of the *Bacillus aryabhatai* to control the nematode *Meloidogyne incognita* in maize plant. Two experiments were conducted in a completely randomized

design with 10 replications, in a 2x2x2 factorial scheme. In the first experiment: with or without nematode, with or without *B. aryabhatai*, with or without water stress. In the second experiment: with or without nematodes, *B. aryabhatai* applied on the seeds or in the planting furrow, with or without water stress. Sixty days after the inoculation of *M. incognita*, the parameters of vegetative growth and nematode population were evaluated. The bacterium *Bacillus aryabhatai* did not reduce the reproduction of *Meloidogyne incognita*. However, application in the planting furrow provided greater suppression of the nematode compared to the application on the seeds. *Bacillus aryabhatai* increased the stem height and diameter under water stress conditions. Water stress at 30% reduced plant vegetative growth.

**Keywords:** root knot nematode, rhizobacteria, water stress, *Zea mays*, seed treatment

## INTRODUÇÃO

Com uma produção de aproximadamente 1,1 bilhão de toneladas, o milho é o cereal mais produzido no mundo. Os principais produtores são os EUA, a China e o Brasil respondendo por cerca de 60% da produção mundial (FAO 2017). Por seu uso múltiplo, tanto na alimentação humana como animal, além de servir como matéria prima de diversos produtos é considerado de grande importância econômica. Cerca de 70% da produção total do milho é utilizada na alimentação animal. Embora o uso do milho na alimentação humana não apresente uma participação muito grande, constitui item muito importante na alimentação de populações em regiões de baixa renda como ocorre em vários países do continente africano e americano. No Brasil, é a segunda maior cultura de importância econômica com produção de 99,984 milhões de toneladas (Conab 2018), sendo superada apenas pela soja.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. estão entre os fitonematoides de maior importância na cultura do milho, devido à patogenicidade, à distribuição e à alta densidade populacional (Lordello, 1984). As espécies *M. incognita* e *M. javanica* são as mais comuns nas lavouras de milho do Brasil (Pinto *et al.*, 2006). O primeiro relato do parasitismo desses nematoides foi feito em 1985 (Teixeira & Moura, 1985). O ataque do *Meloidogyne* spp na cultura de milho resultará na redução do crescimento da planta,

menor eficiência na absorção de água e nutrientes da solução do solo, sintomas de deficiências minerais e, conseqüentemente, perdas na produção.

O controle desses nematoides é bastante complexo, pois uma vez detectada na área de cultivo, a erradicação é praticamente impossível. Portanto exigem medidas combinadas que possibilitem o máximo de redução populacional e tornar o cultivo viável (Freitas *et al.*, 2004). Entre as alternativas de controle que podem ser empregadas na cultura, está o controle com produtos a base de rizobactérias promotoras de crescimento, principalmente as bactérias gênero *Bacillus*.

A microflora do solo é constituída por vários organismos que mantêm diversas relações com as plantas superiores, podendo elas ser nocivas ou benéficas às plantas. Exemplo de microrganismos com ação benéfica são as “rizobactérias” encontradas na rizosfera também conhecidas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs). Em sua associação com as raízes de plantas, além de promover o crescimento de plantas em condições abióticas de estresse, a BPCPs atuam também como agentes de controle biológico de fitopatógenos através de diversos mecanismos. Esses são: a) de ação diretos que afetam diretamente o metabolismo da planta. Entre eles, podem ser citados: produção de fitohormônios como o ácido indol acético (AIA), giberelina, citocinina e etileno (Bashan & Holguin, 1997); solubilização de fosfatos; fixação de nitrogênio atmosférico; produção de sideróforos; b) indiretos que necessitam a participação de processos metabólicos defensivos da planta. Alguns deles são: antibiose, competição, parasitismo, indução de resistência (Podile & Kishore, 2007).

Os gêneros de bactérias mais encontrados, associadas a raízes de planta no solo são: *Aeromona*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Serratia* ( Podile & Kishore, 2007). As bactérias do gênero *pseudomonas* são as mais abundantes de todos os microrganismos da rizosfera (Hernandez, 2000) e, conseqüentemente, as mais amplamente estudadas. Contudo, as do gênero *Bacillus* possuem elevado potencial como inoculantes em plantas por serem de fácil utilização e capazes de sobreviver tanto em solo como armazenadas. (Petras & Casida, 1985).

A espécie *Bacillus aryabhatai* foi isolada e identificada pela primeira vez de criotubos usados para coletar amostras de ar da estratosfera da Terra a uma altitude entre 27 e 41 km em 2009 (Shivaji *et al.*, 2009). É uma bactéria gram positiva, de formato bastonete, formação de endósporos, e com colônias de 5 a 8 mm de diâmetro. Desde então, alguns estirpes foram isoladas na rizosfera em várias lugares do mundo. A ação promotora de crescimento desta bactéria foi relatado inicialmente em *Xanthium italicum*, na Coreia do Sul ( Lee *et al.*, 2012). No Brasil, a bactéria promoveu o crescimento do milho sob estresse hídrico devido a sua capacidade de formar um biofilme e produção de exopolissacarídeos que protegem a planta contra o impacto da falta de água (Kavamura, 2012). Em estudos mais recentes, Park *et al.* (2017) demonstraram a promoção de crescimento em plantas de soja em condições de estresse térmico. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar se a bactéria *Bacillus aryabhatai* tem potencial para controle de *Meloidogyne incognita* em milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, localizada no campus Umuarama na cidade de Uberlândia-MG (Latitude 18° 55' 07" Sul e Longitude 48° 16' 38" Oeste). O clima da região conforme a classificação de Köppen, é do tipo Aw, com temperatura de média de 22°C e precipitação de 1600 mm.

Foram conduzidos dois ensaios no período de abril a junho de 2019, em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições. O primeiro composto de esquema fatorial 2x2x2, com presença ou ausência de nematoide, com ou sem a bactéria *B. aryabhatai* no tratamento de sementes, e com ou sem estresse hídrico, respectivamente. No segundo foram avaliados os modos de aplicação da bactéria *B. aryabhatai* no mesmo esquema fatorial. O primeiro fator com a presença ou ausência do nematoide; o segundo fator a aplicação da bactéria via semente ou via sulco de plantio, e o terceiro fator, com ou sem estresse hídrico.

Foram utilizadas sementes de milho híbrido K9960 VIP3. A inoculação com *Bacillus aryabhatai* foi feito via semente na concentração de  $5 \times 10^7$  UFC por kg de sementes, e no sulco, na concentração de  $5 \times 10^5$  por hectare. O suprimento hídrico foi

de 30% da capacidade de campo para os tratamentos sob condições de estresse hídrico, e de 80% nos tratamentos sem estresse hídrico.

A determinação da capacidade de campo foi feita no laboratório com o mesmo solo e vasos usados nos experimentos. O vaso foi preenchido com solo seco ao ar e pesado. Em seguida, adicionou-se uma determinada quantidade de água de tal modo a saturar o solo, e o vaso foi colocado num suporte para observar a drenagem da água. Quando cessou a drenagem, o vaso foi pesado novamente, e a capacidade de campo foi obtida pela diferença entre o peso seco e úmido. Esse processo foi repetido três vezes para obter uma média mais precisa.

O inóculo de *Meloidogyne incognita* foi obtido a partir de plantas de soja pelo método de Hussey & Barker modificado por Boneti & Ferraz (1981). As raízes foram cortadas em pedaços de aproximadamente 1 cm e transferidas para um copo de liquidificador. Foi adicionada solução de hipoclorito de sódio até cobri-las, e em seguida foram trituradas por 20 segundos na menor velocidade. A suspensão obtida foi vertida na peneira de 100 mesh sobreposta à de 500 mesh e o resíduo da peneira de 500 mesh foi recolhido com auxílio de jatos de água de uma pisseta para um copo de Becker. A suspensão obtida foi calibrada para conter 5000 ovos e juvenis de *M. incognita*.

Foram semeadas três sementes de milho em vasos de 1,5 L contendo areia e solo na proporção 2:1, mantido em casa de vegetação com suprimento diário de água para atingir de 80% da capacidade de campo. Cinco dias após a emergência, foi realizado o desbaste deixando apenas uma planta por vaso, e no mesmo dia foi feita a inoculação com *M. incognita*. Três orifícios foram feitos em cada vaso à uma distância de 2 cm da haste das plantas e com 2 cm de profundidade, e em seguida foi distribuída a suspensão de nematoides nestes orifícios.

Para adubação, utilizou-se uma solução nutritiva contendo os macros e micronutrientes essenciais para o desenvolvimento da planta. Cada litro de solução nutritiva contém 1 mL de EDTA férrico, 1 mL de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 5 mL de  $\text{KNO}_3$ , 5 mL de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2 mL de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 1 mL dos micronutrientes  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . A aplicação desta foi feita

na segunda e terceira semana após o plantio na dose de 100 ml por vaso. Aos 30 dias, os tratamentos foram submetidos ao estresse hídrico, mantendo o solo à capacidade de campo de 30%. O manejo de plantas daninhas foi realizado por capina manual quando necessário em cada vaso.

Sessenta dias após a inoculação com *M. incognita*, foram realizadas as avaliações dos seguintes parâmetros: diâmetro de colmo, altura de planta, massas fresca e seca da parte aérea, massa fresca das raízes. Ainda na casa de vegetação foi feita a medição da altura da planta usando-se uma régua comum, e do diâmetro utilizando um paquímetro. Após as medições, as plantas foram retiradas do substrato, separando a parte aérea do sistema radicular; a parte aérea foi pesada, acondicionadas em sacos de papel e seco em estufa a 65°C até atingir massa constante e as raízes lavadas e pesadas. Posteriormente a população de nematoides foi determinada pelo processamento do solo e das raízes utilizando-se as técnicas de flutuação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1964) e do liquidificador doméstico (Bonetti & Ferraz, 1981), respectivamente.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a um nível de probabilidade de 5% utilizando o programa SISVAR.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Primeiro ensaio**

#### **Desempenho agrônômico**

Dentro dos parâmetros avaliados, houve interação tripla significativa entre *Bacillus aryabhatai*, estresse hídrico e *M. incognita* apenas em relação ao peso fresco da raiz e o diâmetro. Para a variável altura houve significância na interação da dupla entre os fatores *B. aryabhatai* e estresse hídrico.

Com relação à massa fresca da raiz, observou-se que na presença do nematoide, sem estresse hídrico e sem a *B. aryabhatai*, as plantas apresentaram a maior massa da raiz (Tabela 1). Esse aumento pode ser consequente da emissão de novas raízes secundárias nos locais de infecção do nematoide. A emissão de raízes secundárias pela planta pode ter ocorrido como uma resposta das plantas ao estresse moderado causado pelo nematoide. Resultados semelhantes foram observados por Abrão & Mazzafera (2001),

onde avaliando o efeito do nível de inóculo de *M. incognita* em duas cultivares algodoeiro, constataram um aumento na massa de raiz quando inoculados com 5000 ovos.

Contudo, sem a inoculação do nematóide e com a aplicação da *B. aryabhatai*, o déficit hídrico influenciou negativamente, promovendo uma redução de 16,853g a 13,543g o que se esperava. (Tabela 1).

Tabela 1 . Efeito da interação entre *Bacillus aryabhatai* , estresse hídrico e *M. incognita* na massa fresca das raízes(g) da planta de milho em casa de vegetação , Uberlândia – MG, 2019

	Massa fresca da raiz (g)			
	Com <i>B. aryabhatai</i>		Sem <i>B. aryabhatai</i>	
	Com estresse	Sem estresse	Com estresse	Sem estresse
Com nematoide	16,020 Bb	17,024 Bb	17,596 Bb	23,781 Aa
Sem nematoide	13,543 Bb	16,853 Ba	14,966 Bb	15,288 Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Em relação ao diâmetro, na presença do nematoide, da *Bacillus aryabhatai* juntamente com o estresse hídrico ocorreu aumento desse parâmetro (Tabela 2). Como mencionado nos parágrafos anteriores, as plantas apresentaram maior massa de raiz na presença do nematoide. Consequentemente, haverá um aumento nos demais parâmetros vegetativos devido ao maior crescimento da planta promovido por essas raízes secundárias. Abrão & Mazzafera( 2001), além de observarem aumento na massa de raiz, observaram também um aumento no crescimento vegetativo das plantas de algodoeiro quando inoculadas com 500 ovos de *M. incognita*.

Em plantas inoculadas com o nematóide e mantidas sob estresse hídrico, a presença da *B. aryabhatai* teve efeito positivo proporcionando um aumento no diâmetro, nas demais condições a *B. aryabhatai* não influenciou nesta variável. (Tabela 3).

Tabela 2 . Efeito da interação entre *Bacillus aryabhatai* , estresse hídrico e *M. incognita* no diâmetro(cm) da planta de milho em casa de vegetação , Uberlândia - MG, 2019

	Diâmetro( cm)			
	Com <i>B. aryabhatai</i>		Sem <i>B. aryabhatai</i>	
	Com estresse	Sem estresse	Com estresse	Sem estresse
Com nematoide	0,918 Aa	0,753 Bb	0,800 Bb	0,766 Ab

Sem nematoide                      0,699 Bb                      0,726 Bb                      0,737 Bb                      0,679 Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Em relação à altura, constatou-se que o suprimento hídrico normal proporcionou o aumento desse parâmetro tanto na presença como na ausência da *B. aryabhatai*. Em condições de estresse hídrico, as plantas apresentaram um comprimento maior mediante a aplicação da *B. aryabhatai* (Tabela 3).

Tabela 3 . Efeito da interação entre *B. aryabhatai* e estresse hídrico na altura da planta de milho em casa de vegetação, Uberlândia - MG, 2019

Altura(cm)		
Estresse hídrico	<i>B. aryabhatai</i>	
	Com	Sem
Com	33,817 Ba	30,950 Bb
Sem	36,200 Ab	38,336 Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Tanto no diâmetro como na altura, observou-se que em condições de estresse hídrico, a *Bacillus aryabhatai* proporcionou o aumento desses parâmetros. Nessas condições, a bactéria é ativada e através de diversos ações metabólicas, consegue promover o crescimento da planta. Kavamura (2012), também observou aumento no comprimento do caule, massa seca da parte aérea e área foliar de plantas de milho submetidas ao estresse hídrico, com a aplicação da *Bacillus aryabhatai*. A habilidade dessa bactéria em promover crescimento de plantas pode ser devido à produção de vários fitohormônios como AIA, ácido abscísico e giberelina (Lee et al. 2012).

As massas fresca e seca da parte aérea não apresentaram nenhuma interação entre os fatores. Contudo, analisando isoladamente os fatores, verifica-se que a presença de nematoide aumenta a massa fresca e seca das plantas, assim como no fator sem o estresse hídrico (Tabela 4 e 5).

Tabela 4 . Efeito da interação entre *Bacillus aryabhatai*, estresse hídrico e *M. incognita* na massa fresca da parte aérea da planta de milho em casa de vegetação , Uberlândia - MG, 2019

Massa fresca parte aérea(g)					
Nematoide	Com <i>B. aryabhatai</i>		Sem <i>B. aryabhatai</i>		Média nematoide
	Com estresse	Sem estresse	Com estresse	Sem estresse	
Com	10,992	13,332	12,742	15,209	13,069 A



Sem	9,545	11,571	8,156	11,898	10,292 B
Média <i>B.</i> <i>aryabhatai</i>	11,360 b		12,001 b		
Média estresse	Com	Sem			
	10,359 b	13,003 a			

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Tabela 5 . Efeito da interação entre *Bacillus aryabhatai* , estresse hídrico e *M. incognita* na massa seca da parte aérea da planta de milho em casa de vegetação , Uberlândia - MG, 2019

massa seca parte aérea(g)					
	Com <i>B. aryabhatai</i>		Sem <i>B. aryabhatai</i>		Média nematoide
	Com estresse	Sem estresse	Com estresse	Sem estresse	
Com nematoide	2,26	2,715	2,652	2,997	2,656 A
Sem nematoide	1,883	2,389	1,701	2,499	2,118 B
Média <i>B.</i> <i>aryabhatai</i>	2,312 b		2,462 b		
Média estresse	Com	Sem			
	2,124 b	2,650 a			

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Observou-se que o estresse hídrico diminui significativamente todos os parâmetros avaliados, exceto o diâmetro do colmo, sendo este superior em condições de déficit hídrico. Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Rufino et al. (2012) onde, estudando quatro genótipos de milho decorrente da redução da disponibilidade hídrica no estágio de crescimento vegetativo, observaram o decréscimo de todas as características da parte aérea. Examinando o crescimento e a transpiração do milho em casa de vegetação sob deficiência hídrica, Wu et al. (2011) notaram redução na formação de fitomassa e na transpiração, quando a umidade nos vasos foi inferior a 90%.

Quando em condições de estresse hídrico, a planta reduz o seu teor de água, diminui o potencial hídrico foliar e conseqüentemente a turgidez, fecha os estômatos e reduz o seu crescimento celular (Jaleel et al. 2009). Além da redução da necessidade hídrica para o desenvolvimento da planta, o estresse hídrico pode reduzir a disponibilidade de alguns nutrientes essenciais uma vez que são melhor absorvidos pelas raízes em meio aquoso o que também diminui o desenvolvimento da planta.

Na presença do nematoide, observou-se o aumento dos parâmetros avaliados. Esses resultados contrastam com aqueles obtidos por Pereira et al (2015), onde avaliando o efeito de estresse hídrico no desenvolvimento da cana com dupla inoculação de *M. incognita* e fungos micorrízicos arbusculares, observaram a redução na altura da planta, massa fresca total e as massa secas do colmo, folhas e total ocasionado pelo efeito isolado do nematoide. Sousa (2014), testando a interação entre *M. incognita*, estresse hídrico e *Bacillus* sp. no meleiro, não identificou nenhuma interação entre os três fatores, porém observou que a ação isolada de *M. incognita* diminui significativamente o comprimento e massa fresca e seca da haste, massa fresca total e o número de folhas e flores das plantas.

### Fator de reprodução do *M. incognita*

Houve uma interação entre *B. aryabhatai* e o estresse onde com a aplicação da *B. aryabhatai*, as plantas sem estresse apresentaram menor fator de reprodução do *M. incognita*. Já em plantas sem a bactéria, o fator de reprodução em ambas as condições hídricas foi estatisticamente igual. Além disso, o fator de reprodução foi menor sem a aplicação da *B. aryabhatai* em ambas condições hídricas, ou seja, a bactéria favoreceu a multiplicação do nematoide. O menor fator de reprodução foi observado com estresse hídrico e sem a bactéria, enquanto o maior foi observado com estresse e com a bactéria (Tabela 6). Em condições de estresse, a *B. aryabhatai* pode ter sido ativada, e através da produção de fitohormônios ( Lee et al.,2012), promoveu o crescimento das raízes e conseqüentemente maior população do nematoide, já que teria mais substrato para se multiplicar.

Tabela 6. Efeito da interação entre *B. aryabhatai* e estresse hídrico no fator de reprodução do *M. incognita* nas plantas de milho em casa de vegetação, Uberlândia - MG, 2019

Estresse	Fator de reprodução	
	<i>B. aryabhatai</i>	
	Com	Sem
Com	8,892 Bb	1,168 Aa
Sem	6,419 Ab	3,208 Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Mazzuchelli et al (2014) ao estudarem as rizobactérias *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*, não constataram redução no fator de reprodução dos gêneros *Meloidogyne* e *Pratylenchus* na cultura do milho. Avaliando diferentes espécies de *Bacillus* no desenvolvimento de cana de açúcar infectada por nematoides de galha, Ferreira et al (2015) não observaram controle do *M. incognita* e *M. javanica* pelas bactérias *B. subtilis*, *B. firmus*, e *B. amyloliquefaciens* na dose de 10 L/ha.

No entanto, diversos trabalhos relatam o controle de fitonematoides pelas rizobactérias. Aplicando a *B. subtilis* em suspensão aquosa na cultura de cana-de-açúcar, Cardozo & Araujo, (2011) observaram um aumento no crescimento e uma redução na reprodução dos nematoides de galha *Meloidogyne* spp. A bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* reduziu os ovos de nematoides nas raízes, os juvenis no solo e as galhas de raízes em plantas de tomate (Chowdhury et al., 2015).

No presente estudo, foi observado uma redução no fator de reprodução do nematoide quando as plantas foram submetidas ao estresse hídrico na ausência da *B. aryabhattai*. Estudando a reprodução de *M. incognita* raça 1 em cultivares de ervilha sob diferentes lâminas de irrigação, Charchar et al (2005) constataram uma redução do fator de reprodução em 60% para as lâminas de 156 a 177 mm em relação às demais lâminas de água, indicando que o nematoide não tolera a deficiência hídrica. Não observaram uma redução no índice de galha do nematoide, o que demonstra que o nematoide pode ter infectado as plantas e formado galhas nas raízes, porém sem que ocorresse a produção de massa de ovos por causa do déficit hídrico. Segundo o mesmo autor, a deficiência hídrica pode ter interferido no processo de eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) do nematoide, impedindo a liberação de J2 para o solo e reduzindo assim a população do nematoide.

## **Segundo ensaio**

### **Desempenho agrônômico**

Não ocorreram interações significativas tripla entre os fatores estresse hídrico, nematoide e forma de aplicação de *B. aryabhattai* para nenhum dos parâmetros avaliados.

Para a massa fresca da raiz da planta, foram verificadas interações duplas entre nematoide e a forma de aplicação; nematoide e estresse; entre estresse e forma de aplicação. Independente da forma de aplicação, a massa fresca da raiz foi maior sem estresse hídrico. Porém quando submetidas ao estresse, a aplicação da *B. aryabhatai* via semente proporcionou um aumento na massa fresca da raiz (Tabela 7).

Analisando a interação entre nematoide e estresse, observe-se um aumento na massa mediante suprimento normal de água independente da presença ou ausência do nematoide. No entanto quando submetidas ao estresse, as plantas apresentaram aumento nessa variável na presença do *M. incognita*( Tabela 7).

Analisando a interação entre nematoide a forma de aplicação da bactéria, observe-se que na aplicação via semente, não houve diferença na massa fresca da raiz independente da presença ou ausência do nematoide. Já na aplicação via sulco de plantio, as plantas apresentaram maior massa na presença do nematoide.

Acredita-se que o incremento na massa fresca da raiz observado na presença do nematoide, foi consequente da emissão de raízes secundárias em resposta do estresse causado pelo nematoide, e não pela ação da bactéria em si. Assim, para essa variável, a melhor forma de aplicação da *Bacillus aryabhatai* foi na semente e sem estresse hídrico (Tabela 7).

Tabela 7 . Efeito das interações entre estresse e forma de aplicação, estresse e nematoide, e nematoide e forma de aplicação da *B. aryabhatai* na massa fresca das raízes do milho em casa de vegetação, Uberlândia -MG, 2019

Massa fresca das raízes (g)		
<i>B. aryabhatai</i>		
Estresse	Sulco	Semente
Com	12,829 Bb	15,730 Ba
Sem	19,379 Aa	18,469 Aa

  

Massa fresca das raízes (g)		
Estresse		
Nematoide	Com	Sem
Com	17,216 Ab	19,343 Aa
Sem	11,407 Bb	18,506 Aa

Massa fresca das raízes(g)		
<i>B. aryabhatai</i>		
Nematoide	Sulco	Semente
Com	19,155 Aa	17,404 Bb
Sem	13,117 Bb	16,796 Ba

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Em relação à altura, observou-se uma interação entre os fatores nematoide e estresse, onde a maior altura foi observado sem o estresse hídrico e sem o nematoide. Sob estresse hídrico, a altura não diferiu em plantas com ou sem o nematoide (Tabela 8).

Tabela 8. Efeito da interação entre estresse hídrico e nematoide na altura das plantas de milho em casa de vegetação, Uberlândia - MG, 2019

Altura ( cm)		
Estresse		
Nematoide	Com	Sem
Com	31,850 Bb	36,095 Ba
Sem	33,350 Bb	41,350 Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Em relação à massa fresca e seca da parte aérea houve uma interação significativa entre nematoide e estresse. Na ausência do nematoide, as massas não diferem, independente das condições hídricas, porém as plantas que foram inoculadas com o nematoide, observe-se um aumento das massas mediante suprimento normal de água (Tabelas 9 e 10). Assim como no primeiro experimento, houve um aumento nesses parâmetros vegetativos na presença do nematoide, resultante do maior crescimento proporcionado pelas raízes secundárias.

A massa seca da parte aérea também apresentou uma interação entre nematoide e forma de aplicação de *B. aryabhatai* onde em plantas inoculadas com o nematoide, a massa seca não diferiu independente da forma de aplicação. Todavia, em plantas que não foram inoculadas com o nematoide, houve incremento da massa quando a *B. aryabhatai* foi aplicada via semente (Tabela 10).

Tabela 9 . Efeito da interação entre estresse hídrico e nematoide na massa fresca da parte aérea das plantas de milho em casa de vegetação, Uberlândia - MG, 2019

Massa fresca da parte aérea(g)		
--------------------------------	--	--

Nematoide	Estresse	
	Com	Sem
Com	10,363 Bb	13,511 Aa
Sem	11,173 Bb	12,173 Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Tabela 10 . Efeito das interações entre nematoide e forma de aplicação da *B. aryabhatai* e entre estresse hídrico e nematoide na massa seca da parte aérea das plantas de milho em casa de vegetação, Uberlândia - MG, 2019

Nematoide	Massa seca da parte aérea (g)	
	<i>B. aryabhatai</i>	
	Sulco	Semente
Com	2,335 Aa	2,555 Aa
Sem	2,417 Aa	2,135 Bb

Nematoide	Massa seca da parte aérea (g)	
	Estresse	
	Com	Sem
Com	2,138 Bb	2,752 Aa
Sem	2,217 Bb	2,335 Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Os fatores nematoide, estresse hídrico e forma de aplicação de *B. aryabhatai* não interagiram entre si e não foram significativos quando estudados isoladamente em relação ao diâmetro do colmo (Tabela 11).

Tabela 11 . Efeito da interação entre forma de aplicação de *Bacillus aryabhatai* , estresse hídrico e *M. incognita* no diâmetro da planta de milho em casa de vegetação , Uberlândia - MG, 2019

Nematoide	Diâmetro(cm)				Média nematoide
	<i>B. aryabhatai</i> no sulco		<i>B. aryabhatai</i> na semente		
	Com estresse	Sem estresse	Com estresse	Sem estresse	
Com	0,728	0,723	0,716	0,710	0,719 A
Sem	0,762	0,752	0,718	0,737	0,742 A
Média <i>B. aryabhatai</i>	0,741 a		0,720 a		
Média estresse	Com	Sem			
	0,731 a	0,731 a			

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

## Fator de Reprodução de *M. incognita*

A aplicação de *B. aryabhatai* via sulco de plantio proporcionou menor fator de reprodução do nematoide, em comparação com a aplicação via sementes em ambas as condições hídricas. Na aplicação via sulco, a bactéria tem maior área de contato com o solo e, conseqüentemente, mais ação sobre o nematoide o que leva à redução da população. Contudo, o menor fator de reprodução foi observado na ausência da bactéria e com o estresse hídrico. Percebe-se que nas duas formas de aplicação não houve diferença no fator de reprodução entre as plantas que foram submetidas ao estresse hídrico e aquelas que não foram (Tabela 12).

Tabela 12 . Efeito da interação entre forma de aplicação de *B. aryabhatai* e estresse hídrico no fator de reprodução do *M. incognita* nas plantas de milho em casa de vegetação, Uberlândia - MG, 2019

Fator de reprodução			
Estresse	<i>B. aryabhatai</i>		
	Sem	Sulco	Semente
Com	1,739 Aa	3,562 Aa	6,774 Bb
Sem	4,161 Bab	1,762 Aa	5,224 Bb

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas não se diferenciam entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Mazzuchelli et al (2014), avaliando o efeito da inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* no crescimento e na produção de milho, não observaram redução na população de nematoide na área do cultivo pelas rizobactérias. Porém observaram um aumento na massa fresca da parte aérea das plantas com a aplicação de *B. subtilis* no sulco, e maior massa das espigas no tratamento com essa espécie aplicada via sementes.

As rizobactérias podem produzir substâncias que podem desestimular a penetração ou alimentação de nematoide nas raízes das plantas e também atuar na infectividade, virulência e agressividade do patógeno, bem como nos processos de infecção, desenvolvimento de sintomas e reprodução (Silveiro, 2001). No entanto, no presente estudo, não houve controle do nematoide pela *Bacillus aryabhatai*. As plantas se mostraram ligeiramente tolerante ao *Meloidogyne* quando não tratadas com a *Bacillus*.

Avaliando o crescimento de três variedades de cana de açúcar submetidas à estresse hídrico associada à *Meloidogyne incognita*, Santos et al (2013), observaram que a

produção de matéria seca da parte aérea e das raízes foi reduzida na associação do estresse hídrico, juntamente com a infestação por nematoide. Em plantas submetidas ao estresse, observaram um menor número de nematoide o que poderia ser explicado pela redução do espaço físico e alterações morfológicas das raízes, ou por causa do sítios de alimentação induzidos pelo nematoide que podem não ter fornecido a quantidade de nutrientes necessário para que o nematoide atingisse todo seu potencial bióticos. Além disso, o estresse hídrico pode induzir as raízes a desenvolverem camadas mais grossas e espessas que pode dificultar a penetração do parasitismo.

## CONCLUSÕES

A bactéria *Bacillus aryabhattai* não reduziu a reprodução de *Meloidogyne* independente das condições hídricas quando comparado aos tratamentos onde não foi realizado a inoculação. No entanto, a aplicação via sulco de plantio proporcionou maior supressão do nematoide, em comparação à aplicação via sementes.

A bactéria *Bacillus aryabhattai* proporcionou aumento na altura e no diâmetro do colmo em condições de estresse hídrico.

O estresse hídrico de 30% reduziu o crescimento vegetativo das plantas, mas em associação com a *B. aryabhattai* teve uma influência variável no fator de reprodução do *M. incognita*.

Para este híbrido, houve maior crescimento vegetativo das plantas na presença do nematoide em comparação à ausência do mesmo.

## Referências

Abrão, M.M.; Mazzafera, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. *Bragantia*, Campinas, v.60, n.1, p. 19 - 26, 2001.

Bashan, Y.; Holguin, G. Azospirillum-plant relationships: Environmental and physiological advances. *Can. J. Microbiol.*, v.43, p.103-121, 1997



Boneti, J.I.S.; Ferraz, S. Modificações do método de Hussey e Barker para extração de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, DF, v.6, p. 553, 1981.

Cardozo, R. B.; Araújo, F. F. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 15, n. 12 p.1283–1288, 2011.

Carneiro, R. G.; Souza, I.; Belarmino, L. C. Nematicidal activity of *Bacillus* spp. strains on juveniles of *Meloidogyne javanica*. Nematologia Brasileira, Piracicaba, v. 22, n.1, p.12-21, 1998.

Charchar, J.M.; Marouelli, W.A.; Giordano, L.B.; Aragão, F.A.S. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 1 em cultivares de ervilha sob diferentes lâminas de irrigação no campo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 40, n. 10, 2005.<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005001000007>

Chowdhury, S.P.; Hartmann, A.; Gao, X.W.; Borriss, R. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42: a review. Front. Microbiol, n. 28, 2015 .

Ferreira, R.J. Espécies de *Bacillus* no controle de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* in vitro de cana-de-açúcar. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2015. 72 p. Tese Mestrado.

Freitas, L.G.; Oliveira, R.D.L.; Ferraz, S. Introdução à Nematologia. Viçosa: UFV, 84p. 2004

Hernández, A. Características de géneros asociados a los cultivos de gerbera y clavel. Cultivos Tropicales, Havana, v. 21, n. 3, p. 15-18, 2000.

Jaleel, C.A.; Manivannan, P.; Wahid, A.; Farooq, M.; Al-juburi, H.J.; Somasundaram, R.; Panneerselvam, R. Drought stress in plants : a review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agriculture Biology, Faisalabad, v.11, p.100 - 105, 2009.

Jenkins, W.R. A rapid centrifugal – flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, Washington, DC., v. 48, p.652, 1964.

Kavamura, V.N. Bactérias associadas às cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo 2012. 246p. Tese Doutorado. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias//noticia/22885691/cientistas-usam-bacterias-para-ajudar-plantas-a-resistir-a-seca>. 10 Out. 2018.

Lee,S.; Ka, J.O.; Song,H.G. Growth Promotion of *Xanthium italicum* by Application of Rhizobacterial Isolates of *Bacillus aryabhatai* in Microcosm Soil. *The Journal of Microbiology.*, v. 50 n.1, p. 45 – 49, 2012. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12275-012-1415-z>. 25 Ago. 2019.

Machado, V.; Berlitz, D. L.; Matsumura, A. T. S.; Santin, R. C. M.; Guimarães, A.; Silva, M. E.; Fiuza, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematoides. *Oecologia Australis*, Rydalmere, v. 16, n. 2, p. 165- 182, 2012.

Mazzuchelli, R. DE C.L.; Sossai, B.F.; Araujo, F.F.DE. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. *Colloquium Agrariae*, v.10, n. 2, p. 40 - 47, 2014.<https://doi.org/10.5747/ca.2014.v10.n2.a106>.

Park, Y.G. ; Mun, B. G.; Kang, S. M.; Hussain, A.; Shahzad, R.; Seo, G. H.; Kim, A. Y.; , Lee, S. U.; Oh, K. Y.; Lee, D. Y.; Lee, I. J.; Yun, B. W. *Bacillus aryabhatai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. *PLoS One*,v. 12, n.3,p. 28, 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5345817/pdf/pone.0173203.pdf>. 22 Out. 2018.

Pereira, C.C.M de S.; Pedrosa, E.M.R.; Rolim, M.M.; Cavalcante, U.M.T.; Filho, J.V.P. Estresse hídrico e seus efeitos no desenvolvimento inicial e atividade bioquímica em cana- de-açúcar com a dupla inoculação de *Meloidogyne incognita* e fungos micorrízicos arbusculares. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada*, Fortaleza, v. 10, n. 4, p. 726 - 738, 2016.

Petras, S. F.; Casida, L. E. J. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. Applied and Environmental Microbiology, Washington – DC, v. 50, p. 1496-1501, 1985.

Pinto, N.F.J.A.; Santos, M.A.; Wruck, D.S.M. Principais doenças da cultura do milho. Informe Agropecuário, v. 27, n.233, p.82-94, 2006.

Podile, A. R.; Kishore, G. K. Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam, S. S. (Ed.). Plant associated bacteria. Netherlands: Springer, p. 195-230, 2006.

Rufino, C.A; Tavares, L.C; Vieira, J.F.; Dor, C. S.; Villela, F. A.; Souza, A.C.; Barros, A.C.S.A. Desempenho de genótipos de milho submetidos ao déficit hídrico no estágio vegetativo. Magistra, Cruz das Almas, v.24,n.3,p.217-225, jul./ set. 2012

Santos, H.R.B.; Pedrosa, E.M.R.; Nogueira, R.J.M.C.; Rolim, M.M.; Maranhão, S.R.V.L.; Medeiros, D.B. Crescimento de três variedades de cana-de-açúcar submetidas a estresse hídrico associada à *Meloidogyne incognita*. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, Recife, v. 8, n. 4, p. 547 - 554, 2013.

Shivaji, S.; Chaturvedi,P.; Begum,Z.; Pindi, P.K.; Manorama,R.; Padmanaban, D. A.; Shouche, Y. S.; Pawar, S.; Vaishampayan, P.; Dutt, C. B. S.; Datta, G. N.; Manchanda, R. K.; Rao, U. R.; Bhargava, P. M.; Narlikar, J. V. Janibacter hoylei sp nov., *Bacillus isronensis* sp nov and *Bacillus aryabhatai* sp nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 59,p. 2977-2986, 2009. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.002527-0>. 20 Out. 2019.

Silva, F. G. da. Levantamento de fitonematóides nas culturas de soja e milho no município de Jataí – GO. Universidade Federal de Uberlândia 2007. 58p.Tese Mestrado. <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/12254/1/FGSilvaDISPRT.pdf>. 17 Nov. 2018.

Silveira, E.B. Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontrole de doenças. In: Michereff, S.J.; Barros, R. Proteção de plantas na agricultura sustentável. Recife: UFRPE, 2001. p.70-100.

Sousa, C.C.M. de. Influência do estresse hídrico e da compactação do solo na associação nematoide, fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2013. 145 p. Tese Doutorado.

Teixeira, L.M.S; Moura, R.M. Desenvolvimento larval pós-infecção de três raças de *Meloidogyne incognita* (Nematoda: Heteroderidae) em diferentes espécies botânicas. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v.9, p.73-105, 1985.

Wu, Y.; Huang, M.; Warrington, D.N. Growth and transpiration of maize and winter wheat in response to water deficits in pots and plots. *Environmental and Experimental Botany*, Paris, v.71, p. 65 - 71, 2011.