

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

FERNANDO AUGUSTO DE MORAES SALLES

**EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PRODUTO BIOLÓGICO À BASE DE *Bacillus*
spp. NA PENETRAÇÃO DE JUVENIS DE 2º ESTÁDIO DE *Meloidogyne exigua* EM
RAÍZES DE TOMATEIRO**

**Uberlândia – MG
Dezembro - 2007**

FERNANDO AUGUSTO DE MORAES SALLES

EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PRODUTO BIOLÓGICO À BASE DE *Bacillus* spp. NA PENETRAÇÃO DE JUVENIS DE 2º ESTÁDIO DE *Meloidogyne exigua* EM RAÍZES DE TOMATEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Agronomia,
da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Maria Amelia dos Santos

**Uberlândia – MG
Dezembro – 2007**

FERNANDO AUGUSTO DE MORAES SALLES

EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PRODUTO BIOLÓGICO À BASE DE *Bacillus* spp. NA PENETRAÇÃO DE JUVENIS DE 2º ESTÁDIO DE *Meloidogyne exigua* EM RAÍZES DE TOMATEIRO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Agronomia,
da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 04 de dezembro de 2007.

Prof^ª. Dra. Maria Amelia dos Santos
Orientadora

Eng. Agrônoma Adriana Figueiredo
Membro da Banca

Eng. Agrônomo Reinaldo de Oliveira França
Membro da Banca

RESUMO

Os fitonematóides causam perdas consideráveis na produção agrícola resultando em prejuízos para o produtor e elevação dos preços para o consumidor. Neste contexto insere-se a adoção do controle biológico que traz grandes vantagens como redução do uso de defensivos químicos, melhoria na renda dos agricultores e não contaminação do meio ambiente. Entre as rizobactérias destacam-se aquela do gênero *Bacillus* que são muito promissoras no controle de diversos fitopatógenos. O presente trabalho objetivou avaliar a penetração de *Meloidogyne exigua* em raízes de tomateiro submetidas a diferentes doses do produto biológico a base de *Bacillus* no período de 08 a 29 de junho de 2007 sob condições de casa de vegetação. O experimento foi conduzido no Laboratório de Nematologia Agrícola e na casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia. Utilizou-se o produto a base de *Bacillus* spp. (NEMIX[®]) nas dosagens de 4, 6 e 8 kg.ha⁻¹, nematicida Aldicarbe (TEMIK 150 G[®] na dosagem de 20 kg.ha⁻¹) como testemunha padrão para o máximo de inibição na penetração do nematóide e a testemunha sem a aplicação de nenhum produto. A espécie vegetal usada para avaliar a penetração do fitonematóide *M. exigua* foi o tomateiro 'Santa Cruz Kada Gigante', em função de sua alta suscetibilidade. Os resultados mostraram que dentre as três doses testadas do produto à base de *Bacillus* spp., 8 kg.ha⁻¹ se mostrou a mais eficiente na redução da penetração de juvenis de segundo estágio de *M. exigua* em raízes do tomateiro. Os resultados encontrados reforçam a hipótese de que um dos mecanismos das rizobactérias é a interferência na penetração de fitonematóides.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 05 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 07 |
| 2.1 Controle biológico no ambiente rizosférico..... | 07 |
| 2.2 Uso de <i>Bacillus</i> spp. no controle de fitonematóides..... | 08 |
| 2.3 <i>Meloidogyne exigua</i> , caracterização do problema..... | 09 |
| 2.4 Uso de bactéria promotoras de crescimento de plantas na agricultura..... | 09 |
| 2.5 Uso de outros organismos no controle de nematóides das galhas..... | 10 |
| 2.6 Produto NEMIX [®] | 12 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 13 |
| 3.1 Obtenção do inóculo..... | 13 |
| 3.2 Instalação e condução do ensaio..... | 13 |
| 3.3 Avaliação da penetração de juvenis de 2 ^o estágio de <i>M. exigua</i> nas raízes..... | 14 |
| 3.4 Temperaturas máximas e mínimas do ar no interior da casa de vegetação..... | 14 |
| 3.5 Análise estatística..... | 15 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 16 |
| 5 CONCLUSÕES..... | 18 |
| REFERÊNCIAS..... | 19 |

1 INTRODUÇÃO

A intensificação da atividade agrícola tem provocado um desequilíbrio ecológico, fazendo-se necessária a utilização de produtos seletivos que não afetem o equilíbrio entre as pragas e seus predadores, parasitóides e patógenos, responsáveis por boa parte do controle biológico natural, já que eles mantêm as pragas em níveis populacionais aceitáveis (DENT, 2000).

De forma a reverter esse quadro, preconiza-se o desenvolvimento de programas de manejo integrado de pragas, definido como um sistema de decisão para uso de táticas de controle, isoladamente ou associadas harmoniosamente, em uma estratégia de manejo baseada em análises de custo/benefício que levam em conta o interesse e/ou impacto nos produtores, sociedade e ambiente (KOGAN, 1998). Entre as táticas de controle disponíveis para esses sistemas de manejo, estão os entomopatógenos e os insetos parasitóides, que englobam os diferentes segmentos do controle biológico de pragas.

Neste contexto atual, de uma sociedade moderna e ecológica, que se preocupa com a preservação do meio ambiente, insere-se o controle biológico como opção aos métodos tradicionais de controle. Segundo Almeida (2001), o controle biológico consiste no emprego de um organismo (predador, parasita ou patógeno) que ataca outro que esteja causando danos econômicos às lavouras. Trata-se de uma estratégia muito utilizada em sistemas agroecológicos, assim como na agricultura convencional que se vale do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Para Almeida (2001), embora o controle biológico traga respostas positivas na redução ou abandono do uso de agrotóxicos e na melhoria de renda dos agricultores, a análise do conjunto de experiências realizadas mundialmente, mostra que os resultados ainda estão concentrados em apenas alguns cultivos. Ainda existe muito que desenvolver nas áreas de controle de pragas e doenças.

Pesquisa em controle biológico com o uso de bactérias colonizadoras de raízes de plantas, denominadas rizobactérias vem apresentando grande destaque (KLOEPPER et al., 1990). As rizobactérias benéficas às plantas por promoverem seu crescimento e/ou atuarem no controle biológico de fitopatógenos são chamadas de bactérias promotoras de crescimento de plantas ou PGPR, abreviatura de seu nome em inglês (KLOEPPER; SCHROTH, 1981) “Plant Growth-Promoting Rhizobacteria”. As PGPR aumentam a disponibilidade de nutrientes para a planta e podem produzir combinações e concentrações de substâncias promotoras de crescimento. Entretanto, o maior efeito destas rizobactérias é o de suprimir patógenos de

plantas e rizobactérias deletérias ao crescimento destas. A inibição destas bactérias deletérias se dá através da produção de sideróforos, substâncias que agem sob condições de pouca disponibilidade de fósforo por reduzir ainda mais o fósforo disponível para outros microrganismos da rizosfera ou pela produção de antibióticos (LEONG, 1986; SCHIPPERS et al., 1987).

O presente trabalho objetivou avaliar a penetração de *Melodogyne exigua* em raízes de tomateiro submetidas a diferentes doses de produto biológico à base de *Bacillus* spp. sob condições de casa de vegetação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Controle biológico no ambiente rizosférico

A pressão da sociedade no sentido de substituir os nematicidas por produtos ou técnicas ecologicamente mais recomendáveis tem incentivado a busca de métodos alternativos para o controle de fitonematóides (FERRAZ; SANTOS, 1995), principalmente para os gêneros de maior importância, como *Meloidogyne* Göeldi, 1887. Nesse contexto, o controle biológico vem sendo considerado uma das alternativas dentro de uma abordagem integrada, no qual se busca assegurar o desenvolvimento sustentável da agricultura. O uso de inimigos naturais é promissor e torna-se um fascinante campo de investigação, sendo potencialmente útil dentro das medidas duráveis (STIRLING, 1991) e podendo atuar reduzindo populações de fitonematóides para limiares abaixo do nível de dano econômico (DUNCAN, 1991).

Os riscos para a saúde humana e para o ambiente apresentados pelos defensivos agrícolas sintéticos acentuam a necessidade de ferramentas como o controle biológico na otimização dos sistemas de agricultura sustentável (BATISTA JÚNIOR et al., 2002).

Estudos com rizobactérias e bactérias endofíticas de raízes de plantas mostraram o potencial desses microrganismos em reduzir os danos causados por fitonematóides (SIDDIQUI et al., 2003). A ocorrência de bactérias na rizosfera de plantas antagonistas, diferentes das usualmente encontradas na rizosfera de plantas cultivadas, é um conhecimento que abre perspectivas para a detecção de isolados com maior eficiência no controle biológico de fitonematóides. Portanto, diferentes espécies vegetais permitem melhor desenvolvimento de determinadas rizobactérias e bactérias endofíticas, e podem ser exploradas para o isolamento de grupos diferentes desses microrganismos. Outro fator que pode ser investigado para aumentar as chances de se isolar rizobactérias com potencial de biocontrole de nematóides é a utilização de calor (STAPLETON; DEVAY, 1982). O aquecimento do solo pode dar uma vantagem competitiva aos organismos benéficos em relação aos fitopatógenos.

Bactérias do solo, especificamente bactérias rizosféricas, podem ser eficientes no controle de doenças causadas por fitonematóides (ANDRADE et al., 1998; OEDJIJONO; DRAGAR, 1993). Na avaliação dos grupos funcionais de microrganismos da rizosfera de *Drosera villosa* var. *villosa* A. St.-Hil, foram encontradas bactérias que inibiam o crescimento de fungos saprófitos em placa de Petri em meio BDA. Esta planta ocorre em ambientes pobres em nutrientes, exigindo alto grau de especialização e sugere que estas bactérias possuam um

complexo mecanismo de sobrevivência, produzindo compostos que inibem o crescimento de outros microrganismos, e constituem biocontroladores de elevado potencial.

Bactérias do gênero *Bacillus* possuem grande potencial para serem usadas como agentes de controle biológico, pois mantêm sua viabilidade quando estocadas por longos períodos (PETRAS; CASIDA, 1985). *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é uma bactéria aeróbia facultativa, gram-positiva e produtora de endósporos. Durante o processo de esporulação, ocorre a produção de uma inclusão cristalina, composta por um ou mais polipeptídios, denominados δ -endotoxinas, que são codificadas pelos genes Cry. Estes cristais são tóxicos a larvas de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera e ainda nematóides e ácaros (DEAN, 1984). Essa bactéria responde por 90% dos produtos de controle biológico comercializados mundialmente, e é utilizado há trinta anos como agente de controle biológico de pragas (VALADARES-INGLIS et al., 1998).

A efetividade do cristal protéico bioinseticida levou a indústria de biotecnologia a introduzir os genes produtores em plantas. As plantas transgênicas *Bt* vêm sendo produzidas desde a década de 80, contendo genes Cry, visando somente ao controle de insetos. Estas plantas podem liberar a toxina através dos exsudatos da raiz, do pólen e de partes vegetativas, quando se decompõem. Alguns autores demonstraram que o cristal protéico rapidamente se liga a minerais de argila do solo, fica protegido da degradação microbiana (TAPP; STOTZKY, 1995) e pode permanecer ativo no solo por até 234 dias (SAXENA et al., 1999).

2.2 Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitonematóides

Os nematóides fitoparasitas são responsáveis por grandes perdas na produção agrícola. Inúmeros microrganismos do solo são conhecidos como parasitas ou predadores de fitonematóides (SHARMA; VIVALDI, 1999). A ação desses microrganismos pode ser resultante de efeito direto ou indireto através da interferência em etapas do ciclo vital do patógeno.

O potencial antagônico de bactérias foi estudado em vários trabalhos de controle biológico de doenças em plantas (BETTIOL; KIMATI, 1990; KREBS et al., 1993; SHARMA; GOMES, 1999). Neipp e Becker (1999), avaliando a atividade biocontroladora de isolados de rizobactérias sobre *Heterodera schachtii*, encontraram estirpes de bactérias, incluindo *B. megaterium*, que reduzem a infecção de nematóides em beterraba. Anteriormente, Kloepper et al. (1992) isolaram bactérias da rizosfera de plantas antagonistas à nematóides e encontraram espécies que exibiam um antagonismo a *H. glycines* e *M. incognita*

em soja, com predominância de isolados do gênero *Bacillus*. Outros estudos evidenciaram o uso de bactérias como biocontroladoras de *H. glycines* em soja, (TIAN et al., 2000). Siddiqui e Mahmood (1995) concluíram que a aplicação de três microrganismos (*B. subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* e *Glomus fasciculatum*) resultou em aumento da nodulação em feijão-guandu (*Cajanus cajan*) e redução da multiplicação de nematóide *Heterodera cajani*.

2.3 *Meloidogyne exigua*, caracterização do problema

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* possuem uma relação parasitária com as raízes de diversas plantas, além de patogênica para muitas culturas, causando enormes prejuízos à agricultura brasileira e mundial (LORDELLO, 1984; LUC et al., 1990).

Meloidogyne exigua Goeldi, 1887, é importante patógeno para a cafeicultura brasileira, pois, além de estar bastante disseminado nos cafezais brasileiros, o efeito do parasitismo desse nematóide causou redução de 50 a 68,2% nas produções iniciais do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) (GUERRA NETO et al., 1985). *M. exigua* foi encontrado em 45,4% das amostras de solo e raízes coletadas em diversos cafezais de Minas Gerais (SOUZA et al., 1999) e em 26% das amostras coletadas no Paraná (PORTZ et al., 2000).

Produtos naturais tem sido fonte de compostos para o controle de pragas e doenças (ISMAN, 2000; JESPERS; WAARD, 1993). Substâncias, com efeito, nematicida têm sido encontradas em extratos obtidos de diversas espécies vegetais (ABID et al., 1997; DIAS et al., 2000; COSTA et al., 2001; KHURMA; SINGII, 1997).

Produtos naturais, como os condimentos de origem vegetal, também conhecidos por especiarias, há muito são utilizados na alimentação humana com propósito de realçar o sabor e preservar os alimentos. Porém, só nas últimas décadas que estudos mais criteriosos têm sido realizados sobre suas propriedades antimicrobianas (SCHMIDT, 1994).

2.4 Uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas na agricultura

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) impacta a produção agrícola, pelo aumento de rendimento (KLOEPPER et al., 1989). As BPCP atuam indiretamente pela supressão de doenças e diretamente pela produção ou alteração da concentração de fitohormônios, fixação de N, pela solubilização de fosfatos minerais ou outros nutrientes do solo; oxidação do S; aumento de permeabilidade das raízes se os gêneros *Pseudomonas* (GERMIDA; FREITAS, 1994) e *Bacillus* (LAZAROVITS; NOWAK, 1997;

TURNER; BACKMAN, 1991), sendo este último, produtor de endosporos que sobrevivem por longos períodos no solo e em armazenamento (LAZAROVITS; NOWAK, 1997).

BPCP têm sido usadas, inclusive comercialmente (ALSTROM, 1991; ALSTROM, 1994; CHEN et al., 1996; GAGNE et al., 1993) para o controle biológico de doenças de plantas e assim aumentar a produtividade de culturas. Como e porque esse controle biológico é exercido, ainda é um tema que carece de mais estudos.

Em algumas situações, é possível que ocorra o controle biológico clássico (TUZUN; KLOEPPER, 1995), por antagonismo direto exercido pela BPCP contra o fitopatógeno, com envolvimento dos conhecidos mecanismos de antibiose: produção de substâncias antimicrobianas, parasitismo direto, competição por nutrientes e por nichos ecológicos (AGRIOS, 1997; CHEN et al., 1996; COOK; BAKER, 1983; KLOEPPER et al., 1992; KLOEPPER, 1996; LARKIN et al., 1996).

Pesquisas têm mostrado que certas BPCP parecem atuar como eliciadoras de ISR (resistência sistêmica induzida), no sentido em que a planta fica sistemicamente protegida contra mais de um patógeno, ao contrário do controle biológico clássico, que visa e implementa o controle de forma mais específica (ALSTROM, 1991; TUZUN; KLOEPPER, 1995).

Quando a BPCP coloniza o sistema radicular, moléculas constituintes da célula bacteriana ou por ela sintetizadas (VAN LOON et al., 1998) atuam como eliciadores de um sinal bioquímico. Esse sinal transloca-se até sítios distantes do local de sua gênese. Genes que codificam para a síntese de componentes da resistência dinâmica são desativados e expressa-se a resistência sistêmica induzida (VAN LOON et al., 1998).

Algumas rizobactérias produzem metabólitos tóxicos que afetam o movimento de nematóides *in vitro*, enquanto outras inibem a eclosão de juvenis e o processo pelo qual penetram as raízes (STIRLING, 1991).

2.5 Uso de outros organismos no controle de nematóides das galhas

Paecilomyces lilacinus (Thom.) Samson, 1974, é um fungo do solo que tem se mostrado efetivo no biocontrole de espécies de *Meloidogyne* (KERRY, 1990). É um hifomiceto da ordem Moniliales distribuído por todo o mundo, com maior frequência em regiões quentes (CARNEIRO, 1986). Caracteriza-se por penetrar nos ovos dos nematóides, destruindo o embrião, podendo exercer forte pressão na capacidade reprodutiva das fêmeas

que são colonizadas e posteriormente mortas (DUNN, 1982). No Brasil, existem registros de *P. lilacinus* em diferentes tipos de solo, cultivados ou não, em profundidades variáveis de 0-40 cm ou mais (CARNEIRO, 1986). Frequentemente tem sido isolado a partir de diferentes hospedeiros ou de substratos provenientes de várias localidades (SOSA-GOMEZ, 2002), com distribuição cosmopolita e maior freqüência em solos agricultáveis (DOMSCH, 1980). A presença de *P. lilacinus* e outros parasitos de ovos foi detectada em solos cultivados com pessegueiro e quiabeiro nos municípios de Pelotas/RS e Atalaia/PR (SANTOS, 1991). Tigano-Milani (1993) encontraram 29 isolados de *P. lilacinus* em amostras de solo oriundas de 22 municípios distribuídos nos estados da BA, GO, MA, MG, MS, MT, RS, SP e TO. Costa (1997), estudando a associação de fungos a cistos de *Heterodera glycines*, encontraram *P. lilacinus* nos municípios de Iraí de Minas/MG e Chapadão do Céu/GO.

Estudos envolvendo a seleção de isolados de *P. lilacinus* para o controle de nematóides são importantes na busca de microrganismos eficientes, adaptados às diferentes regiões. Cabanillas (1989), avaliando 13 isolados de *P. lilacinus* provenientes do Peru e de diversos locais dos Estados Unidos e do Japão, observaram que um originário do Peru e uma mistura dos isolados da Flórida, de Nova York, da Califórnia e do Peru reduziram significativamente o número de galhas formadas por *M. incognita* em tomateiro. Freitas (1995), comparando a eficiência do parasitismo de 19 isolados de *P. lilacinus*, observaram que 100% dos ovos de *M. javanica* estavam parasitados com os isolados originários da Itália e do Peru e cerca de 70% com o isolado da França. Já o percentual de ovos parasitados pelos isolados brasileiros variou de 2 a 69%. Posteriormente, Freitas (1999) obtiveram sucesso na proteção de mudas de tomateiro, em casa de vegetação, contra *M. javanica*, por meio da incorporação de *P. lilacinus* ao substrato. Entretanto, Novaretti (1986), na cultura de cana-de-açúcar, Hewlett (1988), em tabaco, e Carneiro e Cayrol (1991), em tomateiro, contestaram a eficiência de diferentes isolados do *P. lilacinus* como agentes de controle em condições de campo. Resultados contraditórios podem estar relacionados à inadequação dos métodos de aplicação e avaliação (KERRY, 1990), à não-adaptação do isolado a diferentes condições e tipos de solo (CARNEIRO, 1992) e à inadequação dos métodos de produção de conídios do fungo (KERRY, 1990).

2.6 Produto NEMIX[®]

NEMIX[®] é um produto condicionador de solo, à base de bactérias do gênero *Bacillus*, 97,8% de lactose e dióxido de silício. O produto é comercializado em três diferentes embalagens, de 1, 5 e 10 kg.

O produto pode ser aplicado via tratamento de substrato, imersão de sistemas radiculares de mudas em suspensões bacterianas, rega da planta com suspensão bacteriana ou por imersão das sementes em suspensão de rizobactérias.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia durante o período de 08 a 29 de junho de 2007.

3.1 Obtenção do inóculo

A obtenção do inóculo foi feita a partir do processamento de amostras de raízes de cafeeiro infectadas por *M. exigua*. As amostras foram levadas para o Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto de Ciências Agrárias e para o processamento, as raízes foram picadas em fragmentos de 2 cm e colocadas em um copo de liquidificador doméstico contendo solução de hipoclorito de sódio (1 parte de água sanitária : 4 partes de água). Procedeu-se a trituração na menor rotação durante 20 segundos. Após esse período, a suspensão passou por um conjunto de peneiras de 200 e 500 mesh, respectivamente, sobrepostas. O resíduo da peneira de 500 mesh foi recolhido, com o auxílio de uma pisseta com água para um béquer (BONETI; FERRAZ, 1981). A suspensão obtida foi calibrada para conter 800 ovos do nematóide/mL.

3.2 Instalação e condução do ensaio

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 tratamentos e cinco repetições.

O genótipo de tomateiro usado foi o ‘Santa Cruz Kada Gigante’, sendo que as doses usadas do produto à base de *Bacillus* (NEMIX[®]) foram 4, 6 e 8 kg.ha⁻¹, o nematicida Aldibarbe (TEMIK 150 G[®]) na dose de 20 kg de produto comercial por hectare como testemunha padrão de controle e tomateiro sem nenhum produto para o padrão de penetração.

As sementes de tomateiro da cultivar ‘Santa Cruz Kada Gigante’ foram semeadas em bandeja de isopor de 128 células e após 8 dias, as plântulas foram transplantadas para copos plásticos com capacidade de 500 mL preenchidos com substrato agrícola PLANTMAX[®]. Para a inoculação, foram abertos três orifícios com 2 cm de profundidade e distanciados a 2 cm da haste da plântula. Nestes três orifícios foram distribuídos 5 mL de suspensão calibrada de inóculo (4000 nematóides/copo plástico). Logo em seguida, as doses do produto à base de *Bacillus* spp. foram adicionadas nos copos plásticos com uma pisseta. O nematicida

Aldicarbe também foi adicionado logo após a inoculação, em sulco aberto ao redor de cada plântula.

3.3 Avaliação da penetração de juvenis de 2° estágio de *M. exigua* nas raízes

A avaliação foi feita após 3 semanas da inoculação, onde as raízes após o corte da parte aérea e da separação do solo, foram processadas pela técnica da coloração de nematóides em tecidos vegetais (BYRD Jr.; KIRKPATRICK; BARKER, 1983). As raízes foram fragmentadas em pedaços de 1 a 2 cm e transferidas para um copo de Becker contendo 50 mL de água onde foram adicionados 20 mL de água sanitária comercial (5,25% de NaOCl), o que resultou em uma concentração final de 1,5% de NaOCl. Os segmentos de raízes permaneceram por 6 min nessa solução, promovendo-se uma agitação manual por 10 s, a intervalos de 1 min. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água corrente por 30 a 45 s e mantidas em repouso por 15 s, em água, para a remoção do resíduo do hipoclorito de sódio.

Em seguida, realizou-se a drenagem completa e adicionou-se 30 mL de água destilada acrescida de 1 mL da solução corante (3,35g de fucsina ácida + 25 mL de ácido acético glacial + 75 mL de água estilada). As raízes nesta solução foram aquecidas até o ponto de ebulição, deixando-as por 30 s em fervura, e logo em seguida o recipiente foi colocado no balcão para atingir a temperatura ambiente. Posteriormente foi removida a solução corante que restou, e o material foi lavado em água corrente e colocado em 20 a 30 mL de glicerina acidificada com algumas gotas de HCl 5N. Os segmentos de raízes foram pressionados entre lâminas microscópicas que foram observadas no microscópio óptico. Foram observados os fragmentos de raízes e determinou-se o número de juvenis de 2° estádios que penetraram nas raízes do tomateiro.

3.4 Temperaturas máximas e mínimas do ar no interior da casa de vegetação

Diariamente as temperaturas máxima e mínima do ar no interior da casa de vegetação foram anotadas para a realização dos cálculos de médias para o período do experimento.

As temperaturas médias máxima e mínima do ar foram de 35,9°C e 15,3°C, respectivamente.

3.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos procedimentos da estatística do programa SISVAR (FERREIRA, 2000), verificando a homogeneidade de variância e normalidade dos erros. Na análise estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos dados apresentados na Tabela 1 e ilustrados na Figura 1, verifica-se que o fluxo de penetração de juvenis de segundo estágio de *M. exigua* foi consideravelmente afetado em todos os tratamentos quando comparado com o controle sem nenhum produto. O tratamento com o produto Aldicarbe a 20 kg.ha⁻¹ foi o que mais afetou a penetração. Das doses do produto à base de *Bacillus* spp., a melhor foi de 8 kg.ha⁻¹, que proporcionou maior porcentagem de inibição 54,13% quando comparado com o nematicida Aldicarbe que apresentou uma porcentagem de inibição de 81,95%.

Tabela 1 - Número de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* penetrados, porcentagem de penetração e porcentagem de inibição em raízes de tomateiro cv. 'Santa Cruz Kada Gigante', após 3 semanas da inoculação. Uberlândia, UFU, 2007.

| Produtos | Nº de J ₂ de <i>M. exigua</i> penetrados | Porcentagem | |
|---|--|-------------|------------------------|
| | | Penetração | Inibição de penetração |
| Aldicarbe (TEMIK 150 G® 20 kg. ha ⁻¹) | 19,40* a** | 0,48*** | 81,95*** |
| <i>Bacillus</i> spp. (NEMIX® 8 kg. ha ⁻¹) | 49,00 b | 1,22 | 54,13 |
| <i>Bacillus</i> spp.(NEMIX® 6 kg. ha ⁻¹) | 66,20 c | 1,65 | 37,97 |
| <i>Bacillus</i> spp.(NEMIX® 4 kg. ha ⁻¹) | 81,00 c | 2,02 | 24,06 |
| Testemunha (sem aplicação) | 106,60 d | 2,66 | ----- |

C.V (%) 13,04

* Média de cinco repetições

** Médias seguidas de letras iguais, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

*** Valores comparados com a população inicial de 4000 ovos de *M. exigua*

Observa-se também que não houve diferença de efeito entre as doses de 4 e 6 kg.ha⁻¹ do produto à base de *Bacillus* spp. com porcentagens de penetração de 1,65 e 2,02%, respectivamente.

A porcentagem de penetração do nematóide variou entre 0,48 e 2,66%, nas testemunhas padrão de controle e penetração, respectivamente, em relação à população inicial.

Os dados obtidos concordam com trabalho realizado por Diman (2007) que utilizou o mesmo nematóide e o mesmo produto. Observou que o produto à base de *Bacillus* spp. na dose de 2 kg apresentou porcentagem de mortalidade maior que 37%, seguido pela dose de 4 kg, com porcentagem de mortalidade de 84,6%. Todos apresentaram efeito superior a testemunha absoluta usada no ensaio. O tratamento com nematicida Aldicarbe (dose 15

kg.ha⁻¹) mostrou-se superior a todos os demais tratamentos, com porcentagem de mortalidade de 89,7%.

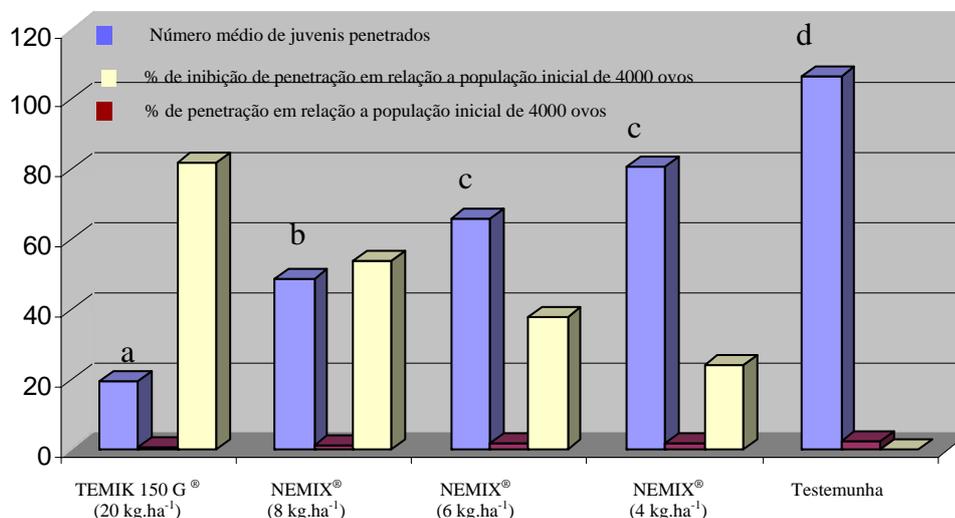


Figura 1 - Número médio de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* penetrados, porcentagens de penetração e de inibição de penetração em raízes de tomateiro cv. 'Santa Cruz Kada Gigante', após 3 semanas da inoculação. Uberlândia, UFU, 2007.

O efeito dos produtos na migração de *M. exigua* revela que há interferência na orientação provocando dispersão dos juvenis. A redução da presença de juvenis penetrados nas raízes do tomateiro em relação à testemunha, pode ter sido também devido a interferência nos processos de eclosão e orientação de juvenis de *M. exigua*.

A hipótese de redução na penetração do nematóide nas raízes pode ser esclarecida como habilidade da bactéria, que compõe o produto, em envolver-se ou ligar-se às lectinas de superfície, que neste caso pode ser mínima devido à bactéria ser gram-positiva. Em solo pausterizado, rizobactérias reduziram a infecção por nematóides, variando de 45 a 68% em várias culturas (SIKORA, 1988). Esse mesmo autor cita que o efeito das rizobactérias está relacionado com a eclosão de juvenis ou eficácia de feromônios para atração dos machos.

As temperaturas no interior da casa de vegetação podem ter influenciado na penetração dos juvenis nas raízes. Alguns autores relatam que a ação antagonista de alguns microrganismos sobre populações de *Meloidogyne* spp. é maior em temperaturas variando de 23 a 25°C do que 18 a 32°C (AL-HAZMI et al., 1982).

5 CONCLUSÕES

Dentre as três doses testadas do produto à base de *Bacillus* spp., a dose de 8 kg.ha⁻¹ mostrou ser mais eficiente na redução da penetração de juvenis de segundo estágio de *M. exigua* em raízes de tomateiro cv 'Santa Cruz Kada Gigante' com porcentagem de penetração de 1,22% e inibição de 54,13%.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Academic Press, San Diego, p.635, 1997.
- AL-HAZMI, A. S.; SCHIMITT, D. P.; SASSER, J. N. The effect of *Arthrobotrys conoides* on *Meloidogyne incognita* populations densities in corn as influenced by temperature, fungus inoculum density and of fungus introduction in the soil. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v. 14, n. 2, p. 168-174, Apr. 1982.
- ALMEIDA, S. G. de Crise Sócio-Ambiental e Conversão Ecológica da Agricultura Brasileira. **Folha de São Paulo**, Rio de Janeiro. 2001. Caderno Agrofolha. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/controler.htm>>. Acesso em: 10 set. 2007.
- ALSTROM, S. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere Pseudomonads. **Journal of General and Applied Microbiology**, Tokyo, v. 37, p. 495-501, 1991.
- ALSTROM, S. Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. **Vaxtskyddsnotiser**, Adelaide, v. 58, p. 37-41, 1994.
- ANDRADE, G.; DE LEIJ, F. A. A. M.; LYNCH, J. M. Plant mediated interactions between *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* and arbuscular mycorrhizae on pea. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 26, p. 311-316, 1998.
- ABID, M., CHOUDHARY, M. I., MAQBOOL, M. A.; RAHMAN, A. U. Preliminary screening of some plants for their nematicidal activity against *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v. 25, p. 155-157, 1997.
- BATISTA JÚNIOR, C. B.; ALBINO, U. B.; MARTINES, A. M.; SARIDAKIS, D. P.; MATSUMOTO, L. S.; AVANZI, M. A.; ANDRADE, G. Efeito fungistático de *Bacillus thuringiensis* de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 8, p. 1189-1194, 2002.
- BETTIOL, W., KIMATI, H. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal de bruzone do arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 1165-1174, 1990.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 6, n. 3, p. 533-533, 1981.
- BYRD JR.; D. W.; KIRKPATRICK, T.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 5, n. 1, p. 142-143, 1983.
- CABANILLAS, E. Growth of isolates of *Paecilomyces lilacinus* on their efficacy in biocontrol of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Journal of Nematology**, Lakeland, v.21, n.2, p. 164-172, 1989.

CARNEIRO, R. M. D. G. **Estude des Possibilités D'utilisation du Champignon Nematophage *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson, 1974, Comme Agent de Lutte Biologique contre *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889), Chitwood, 1949.** 1986. 119f. Tese (Doutorado) - Cours do Pos Graduation in Parasitologie, Academie de Montpellier. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, France.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CAYROL, J. C. Relationship between inoculum density of the nematophagus fungus *Paecilomyces lilacinus* and control of *Meloidogyne arenaria* on tomato. **Revue Nematologie**, Montpellier, v. 14, n. 4, p. 629-634, 1991.

CARNEIRO, R. M. D. G. Princípios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 113-121, 1992.

CHEN, Y.; MEI, R., LIU, L.; KLOEPPER, J. W. The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. In: UTKHEDE, R. S.; GUPTA, V. K. (Ed). **Management of Soil Borne Diseases**. Ludhiana: Kalyani Publishers, p. 165-184, 1996.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. E. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Diseases**, Saint Paul, American Phytopathological Society, 539 p. 1983.

COSTA, S. B. Fungos associados a cistos de *Heterodera glycines* no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n.2, p. 31-37, 1997.

COSTA, M. J. N., CAMPOS, V. P., OLIVEIRA, D. F.; PFENNING, L. H. Toxicidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 27, p. 245-250, 2001.

DEAN, D. H. Biochemical genetics of the bacterial insect-control agent *Bacillus thuringiensis*: basic principles and prospect for genetic engineering. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, Andover, v. 2, p. 341-363, 1984.

DENT, D. **Insect pest management**. Cambridge: Cabi Bioscience, 2000.

DIAS, C. R., SCHWAN, A. V., EZEQUIEL, D. P., SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, p. 203-210, 2000.

DIMAN, L. O. **Efeito de produtos biológicos à base de *Bacillus* em espécies de fitonematóides do gênero *Meloidogyne***. 2007. 37 f. Monografia (Monografia em Agronomia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

DOMSCH, K. H. **Compendium of soil fungi**. New York: Academic Press, 1980. v. 1. 859p.

DUNCAN, L. W. Current options for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 469-490, 1991.

- DUNN, M. T. Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson as observed with scanning electron microscope. **Scanning Electron Microscopy**, Lawton, v. 3, p. 1351-1357, 1982.
- FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. dos Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. In: LUZ, W.C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v. 3, p. 283-314, 1995.
- FERREIRA, D. F. 45^ª REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0**, UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.
- FREITAS, L. G. Effectiveness of different isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**, Bradenton, v. 25, n. 2, p. 109-115, 1995.
- FREITAS, L. G. Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela produção de mudas e substrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 1, p. 65-71, 1999.
- GAGNE, S.; DEHBI, L.; LE QUERE, D.; CAYER, F.; MORIN, J. L.; LEMAY, R.; FOURNIER, N. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media. **Soil Biology and Biochemistry**, Montpellier, v.25, p.269-272, 1993.
- GERMIDA, J. J.; FREITAS, J. R. Growth promotion of cabbage, lettuce and onion by fluorescent pseudomonads under growth chamber conditions. WORKSHOP ON PLANT GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIA, 3., 1994, Adelaide. **Proceedings...** Adelaide: OEDC-OEDC, 1994. p. 37-39.
- GUERRA NETO, E. G., D'ANTONIO, A. M.; FREIRE, A. C. F. Influência de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, no desenvolvimento de lavoura de *Coffea arabica* L., variedade Mundo Novo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 12., 1985, Caxambu. **Resumos...** Caxambu, 1985. p. 36-37.
- HEWLETT, T. E. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 20, n.4, p. 578-584, 1988.
- ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Suwon, v. 19, p. 603-608, 2000.
- JESPERS, A. B. K.; WAARD, M. A. de. Natural products in plant protection. **Netherlands Journal Plant Pathology**, Wageningen, v. 99, p. 109-117, 1993.
- KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial controle of plant parasitic nematode. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 22, n. 45, p. 621-631, 1990. (Supplement)
- KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R. L.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnology**, Auburn, v. 7, p. 39-44, 1989.

KLOEPPER, J. W., RODRIGUEZ-KABANA, R., MCINROY, J. A. Rhizosphere bacteria antagonist to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes identification by fatty-acid analysis and frequency of biological control activity. **Plant and Soil**, Auburn, v. 139, n. 1, p. 75-84, 1992.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, p. 1020-1024, 1981.

KLOEPPER, J. W.; ZABLOTOWIXZ, R. M.; TIPPING, E. M.; LIFSHITZ, R. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: KEISTER, D.L. CREGAN, P.B. (ed.). **The rhizosphere and plant growth**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 315-326, 1990.

KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S.; KUC, J. A. Proposed definitions related to induced disease resistance. **Biocontrol Science Technology**, Brasília, DF, v. 2, p. 349-351, 1992.

KLOEPPER, J. W. Host specificity in microbe-microbe interactions. **BioScience**, Washington, v. 46, p. 406-409, 1996.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.

KREBS, B., JUNGE, H., OCKHARDT, A. *Bacillus subtilis*: an effective biocontrol agent. **Pesticides Sciences**, Barking, v. 37, p. 427-429, 1993.

KHURMA, U. R.; SINGH, A. Nematicidal potential of seed extracts: *in vitro* effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v. 25, p. 49-54, 1997.

LARKIN, R. P.; HOPKINS, D. L.; MARTIN, F. N. Suppression of Fusarium wilt of watermelon by nonpathogenic Fusarium oxysporum and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, p. 812-819, 1996.

LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 2, p. 188-192, 1997.

LEONG, J. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 187-209, 1986.

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das Plantas Cultivadas**. 8^a ed. São Paulo: Editora Nobel. 1984.

LUC, M., SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford. C.A.B. International, v. 1, p. 519-537. 1990.

NEIPP, P. W., BECKER, J. O. Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris* against *Heterodera schachtii*. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 31, n. 1, p. 54-61, 1999.

- NOVARETTI, W. R. T. Efeito da aplicação conjunta do fungo *Paecilomyces lilacinus* e do nematicida Furadan 5 G no controle de nematóides em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, p. 133-144, 1986.
- OEDJIJONO, M. A. L.; DRAGAR, C. Isolation of bacteria antagonistic to a range of plant pathogenic fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 247-250, 1993.
- 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.
- PORTZ, R. L., FURLANETTO, C.; STANGARLIN, J. R. Levantamento de espécies de nematóides do gênero *Meloidogyne* na cultura do café em municípios do oeste do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, p. 339-339, 2000.
- SANTOS, J. M. dos Detection and ecology of nematophagous fungi from brazilian soils. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 15, n. 2, p. 121-134, 1991.
- SAXENA, D.; FLORES, S.; STOTZKY, G. Transgenic plants: Insecticidal toxin in root exudates from *Bt* corn. **Nature**, London, v. 402, p. 480, 1999.
- SCHIPPERS, B.; BAKKER, A. W.; BAKKER, P. A. H. M. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 339-358, 1987.
- SIKORA, R. A. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. **Medical Faculty Landbouww**, Gent, v. 53, p. 867-878, 1988.
- SCHMIDT, L.F. **Efeito de extratos naturais de origem vegetal sobre esporos de *Desulfotomaculum nigrificans***. 102f. Dissertação (Tese de Doutorado) - Universidade de Campinas, Campinas, 1994.
- SHARMA, R. D., GOMES, A. C. Controle biológico de *Meloidogyne arenaria* com *Pausteria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 1, p. 47-52, 1999.
- SHARMA, R. D., VIVALDI, L. J. Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pausteria penetrans*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 11, p. 2065-2069, 1999.
- SIDDIQUI, Z. A., MAHMOOD, I. Biological control of *Heterodera cajani* and *Fusarium udum* by *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* and *Glomus fasciculatum* on "pigeonpea". **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge, v. 18, p. 559-566, 1995.
- SIDDIQUI, I. A., SHAUKAT, S. S., KHAN, G. H.; ALI, N. I. Suppression of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas aeruginosa* IE-6S+ in tomato: the influence of NaCl, oxygen and iron levels. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 35, p. 1625-1634, 2003.
- SOSA-GOMEZ, D. R. **Fungos entomopatogênicos: catálogo de isolados**. Londrina: Embrapa Soja, 2002. v. 1, p. 1-32. (Série Documentos).

SOUZA, J. T., MAXIMINIANO, C.; CAMPOS, V. P. Nematóides parasitos encontrados em cafeeiros em campo e em viveiros de mudas do Estado de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, p. 180-183, 1999.

STAPLETON, J. J.; DEVAY J. E. Effect of soil solarization on populations of selected soilborne microorganisms and growth of deciduous fruit tree seedlings. **Phytopathology**, Sydney, v. 72, p. 323-326, 1982.

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

TAPP, H.; STOTZKY, G. Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p. 1786-1790, 1995.

TIAN, H. L., RIGGS, R. D., CRIPPEN, D. L. Control of soybean cyst nematode by chitinolytic bacteria with chitin substrate. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 32, n. 4, p.370-376, 2000.

TIAN, H. L., RIGGS, R. D. Effects of rhizobacteria on soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 32, n. 4, p. 377-388, 2000.

TIGANO-MILANI, M. S. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.e *Paecilomyces* sp. em solos de diferentes regiões do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 391-393, 1993.

TURNER, J. T.; BACKMAN, P. A. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, n. 4, p. 347- 353, 1991.

TUZUN, S.; KLOEPPER, J. W. Potential Applications of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Induced Systemic Disease Resistance. In: REUVENI, R. (Ed). **Novel Approaches to Integrated Pest Management**. Boca Raton: Lewis Publishers, p. 115-127, 1995.

VALADARES-INGLIS, M. C.; SOUZA, M. T. de; SHILER, W. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. v. 1, p. 208-217.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.