

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

AISLAN SIQUEIRA CHAVES

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

**Uberlândia – MG
Dezembro – 2007**

AISLAN SIQUEIRA CHAVES

**EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PRODUTO À BASE DE *Bacillus* spp. NA
PENETRAÇÃO DE JUVENIS DE 2º ESTÁDIO DE *Meloidogyne javanica* 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**

AISLAN SIQUEIRA CHAVES

**EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE PRODUTO À BASE DE *Bacillus* spp. NA
PENETRAÇÃO DE JUVENIS DE 2º ESTÁDIO DE *Meloidogyne javanica* 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 18 de Dezembro de 2007.

Prof^a. Dra. Maria Amelia dos Santos
Orientador

Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães
Membro da Banca

Eng^a Agrônoma Adriana Figueiredo
Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida e por me dar a capacidade de tornar meus sonhos realidade.

À Prof. Maria Amélia dos Santos pela orientação e pela colaboração na execução desse projeto.

À minha família, em especial aos meus pais, Adilson e Maria Abadia, que sempre me incentivaram e me deram força para cumprir essa tarefa.

Aos meus amigos de curso pelo apoio mútuo para que essa caminhada fosse menos difícil.

RESUMO

Existem várias técnicas recomendadas para o controle de fitonematóides, porém em geral o agricultor exerce preferência pelo uso de nematicidas. Na tentativa de tornar o processo produtivo mais racional, eficiente e econômico, o uso do controle biológico tem ganhado destaque. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a penetração de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro conduzido sob diferentes doses de produto biológico a base de *Bacillus* spp. em condições de casa de vegetação. 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. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos (produto biológico nas doses de 4, 6 e 8 kg.ha⁻¹, o nematicida Aldicarbe [TEMIK 150G[®] 20 kg.ha⁻¹] e testemunha padrão de controle de tomateiro sem nenhum produto). A obtenção do inóculo foi feita a partir do processamento de amostras de raízes de tomateiro infectadas por *M. javanica* de acordo com a técnica do liquidificador doméstico seguido pela técnica da flutuação centrífuga em sacarose para clareamento da suspensão. A suspensão obtida foi calibrada para conter 800 ovos do nematóide.mL⁻¹. A semeadura ocorreu em bandejas de isopor de 128 células com substrato agrícola PLANTMAX[®], e após a plântula desenvolvida foram adicionados 5mL da suspensão de ovos. Após 3 semanas da inoculação, iniciou a avaliação. As raízes foram processadas pela técnica da coloração de nematóides em tecidos vegetais, realizando-se a contagem de juvenis penetrados. Dentre as três doses avaliadas do produto biológico à base de *Bacillus* spp., 8 kg.ha⁻¹ apresentou maior redução de penetração de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* em raízes de tomateiro cv ‘Santa Cruz Kada Gigante’ com 0,72% de penetração, comparado com 2,13% da testemunha sem nenhuma aplicação de produto.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	06
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	08
2.1 Gênero <i>Meloidogyne</i>	08
2.2 O ambiente rizosférico.....	09
2.3 O controle de fitonematóides por rizobactérias.....	09
2.4 Modo de ação das rizobactérias contra os nematóides.....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Obtenção do inóculo.....	14
3.2 Instalação e condução do ensaio.....	14
3.3 Avaliação da penetração do juvenil de 2º estágio de <i>M. javanica</i> nas raízes do tomateiro.....	15
3.4 Análise estatística.....	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5 CONCLUSÕES.....	18
REFERÊNCIAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

Na tentativa de diminuir as populações de nematóides, abaixo do nível de dano econômico, vários métodos de controle têm sido pesquisados nos últimos anos, visando uma integração entre as técnicas disponíveis, para tornar o processo produtivo mais racional, eficiente e econômico (NOVARETTI et al., 1998). As técnicas de controle mais recomendadas para as fitonematoses, em geral, são o uso de cultivares resistentes, controle biológico, incorporação de matéria orgânica, emprego de plantas antagônicas, rotação de cultura com plantas não hospedeiras e a aplicação de nematicidas sistêmicos (BARROS et al., 2000; BROWN; KERRY 1987).

Entre as alternativas mais empregadas, destaca-se o controle químico, especialmente por este apresentar resultados imediatos. Entretanto, o uso de nematicidas sistêmicos em plantios de cana-de-açúcar tem sido questionado quanto à eficácia e pela inconstância dos resultados (BARROS et al., 2003). Além disso, com o aparecimento de novos produtos nematicidas, como por exemplo, abamectina, que apesar do seu potencial para o controle de fitonematóides na cultura da cana-de-açúcar, ainda não é registrado, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas para avaliar a eficiência desses produtos (BECKER, 1999; CHAVES et al., 2002).

Outro campo de pesquisa em controle biológico trata-se do uso de bactérias colonizadoras de raízes de plantas, denominadas rizobactérias (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”. 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).

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.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a penetração de *Meloidogyne javanica* em raízes de tomateiro em relação a diferentes doses do produto biológico à base de *Bacillus* spp., em condições de casa de vegetação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Meloidogyne*

Nematóides parasitas de plantas são vermes microscópicos que vivem no solo e se alimentam no tecido vegetal através da introdução de seu estilete (aparelho bucal). Os nematóides inserem seu estilete nas células radiculares e passam a sugar o conteúdo celular. Os nematóides do gênero *Meloidogyne* causam a formação de galhas radiculares (DOENÇAS, 2008).

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 sintoma principal é a ocorrência de galhas nas raízes das plantas, que são más formações ou engrossamentos do sistema radicular. As plantas afetadas por nematóides apresentam uma série de problemas, tais como: enfraquecimento, baixa produção, desfolhamento precoce e declínio prematuro, e em casos severos pode levar até a morte da planta. A fase infecciosa são os juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* que penetram nas raízes e estabelecem um sítio de alimentação na região do cilindro central da raiz. A fêmea de *Meloidogyne* oviposita aproximadamente 500 ovos na matriz gelatinosa, e com o desenvolvimento do nematóide, os J2 se diferenciam em machos e fêmeas. Os machos, adultos, abandonam o sistema radicular, e as fêmeas permanecem no interior das raízes alimentando-se. (GOMES; CAMPOS, 2003).

Nematóides do gênero *Meloidogyne*, conhecidos como causadores das galhas, são endoparasitos sedentários e possuem ampla distribuição geográfica. As espécies mais importantes são *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*, porém espécies como *M. paranaensis*, *M. hapla* e *M. exigua*, também são estudadas em diversos trabalhos apresentados (GOMES; CAMPOS, 2003).

O ciclo de vida do nematóide das galhas é de aproximadamente quatro semanas, podendo prolongar-se sob condições de temperatura menos favoráveis (GOMES; CAMPOS, 2003).

2.2 O ambiente rizosférico

As bactérias não estão distribuídas aleatoriamente na rizosfera, mas sim agregadas, principalmente nas regiões intercelulares da epiderme por serem áreas de ativa exsudação (BOWEN; FOSTER, 1978; BOWEN; ROVIRA, 1976). A colonização de raízes recém formadas é mínima, mas após alguns dias, microcolônias aparecem em associação com a matéria orgânica que as pontas das raízes encontram à medida que crescem (STIRLING, 1991). Outro grupo de bactérias que causam benefícios às plantas são as endofíticas (ou endófitas), isto é, as que se encontram no interior das raízes sem causar danos às plantas (KLOEPPER et al., 1999). Um grande número de espécies de bactérias podem viver no interior das plantas. Mcinroy e Kloepper (1995) isolaram 47 espécies diferentes de bactérias do interior de plantas de algodão. Hallmann et al. (1995) conseguiram, com sete espécies de bactérias endofíticas, a redução de até 50% da infecção de *M. incognita* em pepino.

As rizobactérias são altamente influenciadas pelas condições do solo. Gamliel e Katan (1991) observaram que o crescimento de plantas de tomate tinha uma relação direta com a população de *Pseudomonas fluorescens* e uma relação inversa com o pH do solo, entre 6,5 e 8,5.

2.3 O controle de fitonematóides por rizobactérias

As bactérias são os organismos mais abundantes na rizosfera das plantas e podem apresentar efeito antagônico a vários patógenos, inclusive aos nematóides (BECKER et al., 1988; ZA VALETA-MEJIA; VAN GUNDY, 1982). Dentre as rizobactérias, o grupo das *Pseudomonas* fluorescentes é o mais consistentemente isolado, principalmente durante períodos de grande produção de exsudatos radiculares (STIRLING, 1991), talvez porque seja melhor colonizadora de raízes do que as rizobactérias de outros gêneros. Oostendorp e Sikora (1989) isolaram 290 culturas de bactérias da rizosfera de beterraba açucareira e trataram sementes com os isolados bacterianos para conferir proteção às plantas contra o ataque de *Heterodera schachtii*, o nematóide do cisto da beterraba açucareira. Oito dos isolados testados mostraram-se ativos contra o nematóide, destes, três eram *Pseudomonas fluorescens*. As *Pseudomonas* não fluorescentes e *Bacillus* spp. também são frequentemente associadas ao controle de nematóides. Uma rizobactéria do grupo das *Pseudomonas* fluorescentes, três *Pseudomonas* não fluorescentes e uma *Bacillus* spp. reduziram em até 53% o número de galhas de *M. incognita* em tomateiros, sendo as mais eficientes entre as 156 testadas por Habe

(1997). Rizobactérias do gênero *Bacillus* também estão frequentemente associadas ao controle de nematóides, mas outros gêneros também mostram-se promissores. Sikora (1988) observou reduções de infecção de *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* e *Rotylenchulus reniformis* em torno de 60 a 65% com o tratamento de sementes de várias culturas com um isodado de *Bacillus subtilis*. Racke e Sikora (1992a) observaram que 16 das 179 rizobactérias testadas reduziram a penetração de *Globodera pallida* em batata, sendo que *A. radiobacter* e *Bacillus sphaericus* resultaram em 24 a 41% de redução na infecção de raízes. Em outro estudo, Racke e Sikora (1992b) comprovaram a eficiência destas rizobactérias em condições de campo, quando inoculadas juntas ou isoladamente.

Rizobactérias podem controlar mais de um grupo de patógenos. Dez isolados com constatado efeito de indução de resistência à *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* foram testados contra *M. javanica* e *M. incognita* em tomate. Observou-se reduções de até 77,4 % no número de ovos e 66,4% no número de galhas em relação ao controle não tratado, mas isolados que apresentaram maior controle de *M. javanica* não foram os mais eficientes para *M. incognita* e vice-versa, indicando especificidade para as espécies do nematóide (NEVES et al., 2000).

2.4 Modo de ação das rizobactérias contra os nematóides

O controle biológico de nematóides não é restrito apenas às interações entre estes fitopatógenos e seus antagonistas, mas ambos são influenciados pela planta, ambiente físico, microflora e microfauna do solo (STIRLING, 1991). 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 eles penetram as raízes (STIRLING, 1991). As avermectinas (AVM), um grupo de lactonas macrocíclicas com potente atividade nematicida, são produzidas por um actinomiceto (BURG et al., 1979; STRETTON et al., 1987).

Cayrol et al., (1993) estudaram os efeitos da abamectina B1, um tipo de avermectina comercializada com o nome de Vertimec, sobre o nematóide *Meloidogyne arenaria* em tomate. Estudos preliminares mostraram que 1 mg.L⁻¹ de AVM B1 inibiu a eclosão de juvenis mesmo depois de 12 dias de incubação. Juvenis expostos à baixas concentrações de AVM B1 (0,3 mg.L⁻¹) ficaram paralizados depois de 24 h. A aplicação de AVM B1 no solo induziu significativa redução da penetração de juvenis nas raízes.

Apesar de muito poucos estudos específicos terem sido feitos para comprovar o(s) modo(s) de ação de rizobactérias sobre os nematóides, alguns mecanismos, atuando sobre determinadas etapas da vida do nematóide, são sugeridos e ilustrados (Figura 1):

Legenda:

- 1- Ovo
- 2- Eclosão
- 3- Direcionamento e mobilidade
- 4- Reconhecimento do hospedeiro
- 5- Penetração na raiz
- 6- Alimentação
- 7- Reprodução

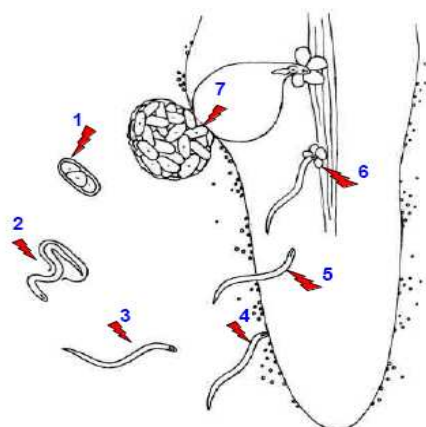


Figura 1- Relação entre o ciclo de vida de *Meloidogyne* e momentos (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7) de ação de rizobactérias sobre o nematóide.

1. Ovo: Antibióticos e toxinas produzidos pelas bactérias da rizosfera difundem-se pelo solo e podem ser absorvidos pelos ovos dos nematóides, matar suas células e impedir o desenvolvimento embrionário e formação do juvenil.

2. Eclosão: A hipótese para explicar a inibição da eclosão é a de que rizobactérias degradam os exsudatos radiculares que funcionam como fator de eclosão para muitas espécies de nematóides. Oostendorp e Sikora (1990) observaram efeitos de redução de eclosão de juvenis de *Heterodera schachtii* tanto ao tratar as plantas de beterraba açucareira antes de coletar os exsudatos como ao tratar soluções de exsudatos radiculares contendo fatores de eclosão com rizobactérias. Ainda existe a possibilidade de que compostos absorvidos pelo ovo inativem o nematóide ou causem deformações durante seu desenvolvimento que o impeçam de sair do ovo.

3. Direcionamento e mobilidade: O nematóide apresenta movimento aleatório no solo até detectar, por meio de seus órgãos sensoriais, baixas concentrações de exsudatos radiculares de seu hospedeiro. Isto o direciona e estimula sua locomoção em direção à maior concentração destes exsudatos até que ele encontre a raiz. A transformação do exsudato radicular em subprodutos pelo metabolismo de rizobactérias pode fazer com que o nematóide simplesmente não reconheça o estímulo quimiotrópico, assim ele continuaria a se movimentar aleatoriamente até esgotar suas reservas de energia e morrer sem penetrar a raiz. Caso o

nematóide reconheça os exsudatos radiculares e se direcione para as raízes, alguns produtos bacterianos podem apresentar características nematostáticas e reduzir a mobilidade do nematóide a ponto de impedir que ele atinja a raiz. Becker et al. (1988) encontraram cerca de 50 rizobactérias que causaram inibição parcial ou total do movimento de *M. incognita* em testes in vitro. Destas bactérias, 20% reduziram significativamente o número de galhas em plantas de pepino, demonstrando a importância deste modo de ação.

4. Reconhecimento do hospedeiro: Alguns gêneros de fitonematóides possuem gama de hospedeiros restrita, portanto o reconhecimento do hospedeiro correto é fator primordial para sua sobrevivência. Ao encontrar a raiz, o nematóide punciona a epiderme radicular com seu estilete e prova o conteúdo das células das raízes. Substâncias produzidas pelas rizobactérias são absorvidas pelas raízes e podem alterar sua composição química, fazendo com que os nematóides não reconheçam seu hospedeiro. Acredita-se também que as rizobactérias se ligam à lectinas na superfície das raízes e, segundo Zuckerman (1983), o processo de reconhecimento é controlado por interações entre lectinas na superfície da raiz e os carboidratos na cutícula do nematóide. Desta forma, as rizobactérias interferem no processo de reconhecimento da planta hospedeira pelo nematóide fitoparasita (STIRLING, 1991).

5. Penetração na raiz: substâncias tóxicas ou repelentes, em alta concentração na região do rizopiano ou no conteúdo celular da epiderme das raízes, podem desestimular a penetração de nematóides endoparasitas na planta hospedeira, ou mesmo a alimentação de nematóides ectoparasitas.

6. Alimentação: nematóides endoparasitas como os dos gêneros *Meloidogyne*, *Heterodera* e *Globodera*, se alimentam em células especiais conhecidas como células gigantes e síncitos. Sem estas células o nematóide não atinge a fase adulta. As rizobactérias, ou seus produtos metabólicos, podem ser absorvidos pela planta e desencadear reação de hipersensibilidade nas células gigantes, que é o principal mecanismo de resistência varietal a nematóides do gênero *Meloidogyne*. A resistência sistêmica induzida por rizobactérias é um fenômeno comprovado para vários microrganismos patogênicos, tais como fungos, bactérias e nematóides, onde ocorre a síntese pela planta de algum metabólito deletério ao patógeno e não a ação direta de toxinas PGPR sobre este (GLICK, 1995; VAN PEER et al., 1991; WEI et al., 1991). Alguns exemplos de patógenos controlados pela indução de resistência sistêmica são *Fusarium oxysporum f. sp. cucumeris* e *Pseudomonas syringae pv. Lachrymans* em pepino (LIU;

KLOEPPER; TUZUN, 1995a; 1995b). A resistência sistêmica em batata induzida pelo nematóide do cisto da batata, *Globodera pallida*, foi comprovada por Hallmann et al. (1988). Os autores acreditam que a morte do juvenil devido à não formação do síncito é possível, mas também conjecturam que a resistência sistêmica pode atuar na alteração dos exsudatos radiculares, impedindo a eclosão, atração ou penetração do nematóide.

7. Reprodução: Quando células gigantes e síncitos são anormais em forma, tamanho e conteúdo, o que ocorre em plantas más hospedeiras, as fêmeas do nematóide não conseguem obter reservas suficientes para produzir ovos. Como algumas rizobactérias têm maior efeito na redução de ovos do que na redução do número de galhas, este pode ser um dos mecanismos atuantes. Apesar de não ser um mecanismo ideal de resistência pois permite danos na cultura parasitada, a interrupção da reprodução do nematóide implica em menores danos durante a vida da planta hospedeira, pois mesmo nas culturas anuais o nematóide das galhas ou dos cistos apresentam mais de um ciclo de vida.

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. javanica*. 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⁻¹.

3.2 Instalação e condução do ensaio

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

A cultivar de tomateiro usada foi ‘Santa Cruz Kada Gigante’, sendo que as doses usadas do produto biológico a base de *Bacillus* spp. (NEMIX[®]) foram 4, 6 e 8 kg.ha⁻¹. O nematicida Aldicarbe (TEMIK 150 G[®] 20 kg.ha⁻¹) foi usado como testemunha padrão de controle e tomateiro sem nenhum produto e com o fitonematóide *M. javanica* para o padrão de penetração.

As sementes de tomateiro da cultivar ‘Santa Cruz Kada Gigante’ foram semeadas em bandeja de isopor de 128 células 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 dos produtos foram adicionadas nos copos plásticos em pequenas covas abertas em torno de cada plântula.

3.3 Avaliação da penetração de juvenis de 2º estágio de *M. javanica* nas raízes do tomateiro

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. et al., 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 e observados no microscópio óptico. Contou-se os juvenis de 2º estádios que penetraram nas raízes.

3.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos procedimentos da estatística do programa SISVAR (FERREIRA, 2000). 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 verifica-se que a penetração de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* foi afetada 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 apresentou menor penetração. Das doses de NEMIX[®], a melhor foi de 8 kg.ha⁻¹, que proporcionou maior inibição.

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

Produtos	Penetrados	Penetração %	% Inibição de Penetração
Aldicarbe (TEMIK 150 G [®] 20 kg. ha ⁻¹)	10,20* a**	0,26***a	88,00
<i>Bacillus</i> spp. (NEMIX [®] 8 kg. ha ⁻¹)	28,80 b	0,72b	66,12
<i>Bacillus</i> spp. (NEMIX [®] 6 kg. ha ⁻¹)	50,40 c	1,26c	40,70
<i>Bacillus</i> spp. (NEMIX [®] 4 kg. ha ⁻¹)	62,20 d	1,57d	26,82
Testemunha (sem aplicação do produto)	85,00 e	2,13e	-

C.V (%)= 12,5

* Média de cinco repetições

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

*** % Penetração= N° de J₂ / 4.000 ovos

Verificou-se que a porcentagem de penetração do nematóide variou entre 0,26 para a dose de aldicarbe e 2,13 para a testemunha sem aplicação de produtos.

Com relação ao produto biológico, este pode ter atuado na orientação dos juvenis de segundo estágio de *M. javanica* ocasionando dispersão dos juvenis, dificultando a penetração dos mesmos ou esta redução pode ter sido ocasionada pela interferência no processo de eclosão dos juvenis de *M. javanica*. Ainda existe a possibilidade de que compostos absorvidos pelo ovo inativem o nematóide ou causem deformações durante seu desenvolvimento que o impeçam de sair do ovo.

Substâncias tóxicas ou repelentes, em alta concentração na região do rizoplane ou no conteúdo celular da epiderme das raízes, podem desestimular a penetração de nematóides endoparasitas na planta hospedeira, ou mesmo a alimentação de nematóides

ectoparasitas. Em solo pausterizado, rizobactérias reduziram a infecção por nematóides, variando de 45 a 68% em várias culturas (SIKORA, 1988).

5 CONCLUSÕES

Dentre as três doses avaliadas do produto biológico a base de *Bacillus* spp., a dose de 100 kg.ha⁻¹ apresentou melhores resultados na redução da penetração de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* em raízes de tomateiro cv 'Santa Cruz Kada Gigante' com uma porcentagem de 0,72 de penetração.

REFERÊNCIAS

- 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/controlre.htm>>. Acesso em: 10 set. 2007.
- BARROS, A. C. B., MOURA, R. M.; PEDROSA, M. R. Aplicação de terbufós no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *Pratylenchus zaeae* em cinco variedades de cana-de-açúcar no Nordeste. Parte 1 - Efeitos na cana planta. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 73-78, 2000.
- BARROS, A. C. B.; MOURA, R. M.; PEDROSA, M. R. Influência da aplicação conjunta de nematicida com calcário, cupinicida ou torta de filtro na eficiência do nematicida em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 237-237, 2003.
- BECKER, W. F. The effect of abamectim on garlic infected by *Ditylenchus dipsaci*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 1-8, 1999.
- BECKER, J.O., ZA VALETA-MEJIA, E., COLBERT, S.F., SCHROTH, M.N., WEINHOLD, A.R., HANCOCK, J.G. ; VAN GUNDY, S.D. Effect of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. **Phytopathology**, Saint Paul, v.78, p.1466-1469, 1988.
- 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.
- BOWEN, G.D.; FOSTER, R.C. Dynamics of microbial colonization of plant roots. In BROUGHTON, W. J.; JOHN C. J. (Ed.) **Symposium of Soil Microbiology and Plant Nutrition**, Kuala Lumpur: University of Malaya Press, Kuala Lumpur, p. 14-31, 1978.
- BOWEN, G.D.; ROVIRA, A.D. Microbial colonization of plant roots. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.14, p.121-144, 1976.
- BROWN, R. H.; KERRY, B. R. **Principles and practice of nematode control in crop**. Orlando: Academic Press Inc, 1987. 421 p.
- BURG, R.W.; MILLER, B.M.; BAKER, E.E.; BIRNBAUM, J.; CURRIE, S.A.; HARTMAN,R.; KONG, Y.; MONAGHAN, R.L.; OLSON, G.; PUTTER, I.; TUNAC, J.B.; WALLIC, H.; STANLEY, E.O.; OIWA, R; OMURA, S. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: Producing organisms and fermentation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bathesda, v.15, p.361-367, 1979.
- 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**, Lawrence, v. 5, n. 1, p. 142-143, 1983.
- CAYROL, J.C.; DJIAN, C.; FRANKOWSKI, J.P. 1993. Efficacy of abamectin B1 for the control of *Meloidogyne arenaria*. **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge, v.16, p.239-246, 1993.

CHAVES, A.; PEDROSA, E. M. R.; MOURA, M. M. Efeitos da aplicação de terbufos sobre a densidade populacional de nematóides endoparasistas em cinco variedades de cana-de-açúcar no Nordeste. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 167-176, 2002.

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.

DOENÇAS. Disponível em:

<http://www.cpatsa.embrapa.br/sistema_producao/spcebola/doencas.htm>. Acesso em: 10 jan. 2008.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In...45^a REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, São Carlos, **Anais...** São Carlos: UFSCar 2000, p. 255-258.

GAMLIEL, A.; KATAN, J. Involvement of fluorescent pseudomonads and other microorganisms in increased growth response of plants in solarized soils. **Phytopathology**, Saint Paul, v.81, p.494-502, 1991.

GOMES C. B.; CAMPOS A. D. **Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha**. Embrapa, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/nemato.htm#galhas>>. Acesso em: 9 out. 2007.

GLICK, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v., p.109-117, 1995.

HABE, H.M. **Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas - RPCP – no controle do nematóide das galhas *Meloidogyne incognita* em tomateiro**. Tese de Mestrado. Universidade de Brasília, 102p, 1997.

HALLMANN, J.; HASKY-GÜNTHER, K.; HOFFMANN-HERGARTEN, S.; REITZ, M.; SIKORA, R.A. Similarities and differences in the mode-of-action of two rhizosphere bacteria antagonistic to *Globodera pallida* on potato. **Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens IOBC Bulletin**, v.21, n.9, p.41-43, 1988.

HALLMANN, J.; KLOEPPER, J.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; SIKORA, R.A. Endophytic rhizobacteria as antagonists of *Meloidogyne incognita* on cucumber. **Phytopathology**, Saint Paul, v.85, p.1136, 1995.

KLOEPPER, J. W.; SCHROTH, M. N. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growthpromoting 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. (eds.). **The rhizosphere and plant growth**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 315-326, 1990.

KLOEPPER, 1999. **Rizobactérias versus nematóides**. Disponível em: <http://www.ufv.br/dfp/lab/namatologia/rizo.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2008

LIU, L., KLOEPPER, J.W. ; TUZUN, S. Induction of systemic resistance against cucumber bacterial angular leaf spot caused by *Pseudomonas syringae* p.v. *lachrymans* with two plant growth-promoting rhizobacterial strains. **Phytopathology**, Saint Paul, v.85, p.843-847, 1995a.

LIU, L., KLOEPPER, J.W. ; TUZUN, S. 1995b. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, Saint Paul, v.85, p.695-698, 1995b.

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.

McINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. **Plant Soil**, Auburn, v.173, p.337-342, 1995.

NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; ROMEIRO, R.S.; SILVA; ALVES, H.S. Controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em tomateiro por bactérias endofíticas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.25, p.102-103, 2000.

NOVARETTI, W. R. T.; MONTEIRO A.R.; FERRAZ, L. C. C. B. Controle químico de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar com carbofúram e terbufos. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 60-74, 1998.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R.A. In-vitro interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. **Revue de Nematologie**, Bondy, v.13, p.269-74, 1990.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R.A. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. **Revue de Nematologie**, Bondy, v.12, p.77-84, 1989.

RACKE, J.; SIKORA, R.A. Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.24, p.521-526, 1992a.

- RACKE, J.; SIKORA, R.A. Influence of the plant health-promoting rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* and *Bacillus sphaericus* on *Globodera pallida* root infection of potato and subsequent plant growth. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.134, p.198-208, 1992b.
- 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. **Medicine Faculty Landbouww Rijksuniv Gent, Landbouww**, v. 53, n. 2b, p. 867-878, 1988.
- STIRLING G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects**. Wallingford: CAB International, 1991. 282p.
- STRETTON, A.O.W.; CAMPBELL, W.C.; BABU, J.R. Biological activity and mode of action of avermectins. In VEECH, J.A; DICKSON, D.W. (ed). **Vistas on Nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists, p. 136-146, 1987.
- VAN PEER, R.; NIEMANN, G. J.; SCHIPPERS, B. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WC-417r. **Phytopathology**, Saint Paul, v.81, p.728, 1991.
- WEI, G., KLOEPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81; p.1508-1512, 1991.
- ZAVALETA-MEJIA, E.; VAN GUNDY, S.D. Effects of rhizobacteria on *Meloidogyne* infection. **Journal of Nematology**, College Park, v.14, n.4, p.475-476, 1992.
- ZUCKERMAN, B.M. Hypotheses and possibilities of intervention in nematode chemoresponses. **Journal of Nematology**, College Park, v.15, p.173-183, 1983.