

# RESEARCH/INVESTIGACIÓN

## ESPÉCIES DE *BACILLUS* NO CONTROLE DOS NEMATOIDES DAS GALHAS E NO DESENVOLVIMENTO DE CANA-DE-AÇÚCAR

R. J. Ferreira\*, P. L. M. Soares, R. B. de Carvalho, J. M. dos Santos, E. S. P. Batista, e J. C. Barbosa

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Câmpus de Jaboticabal; Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14884-900, Jaboticabal-SP. \*Autor para correspondência: jrferreira@fcav.unesp@gmail.com

---

### ABSTRACT

Ferreira, R. J., P. L. M. Soares, R. B. Carvalho, J. M. Santos, E. S. P. Batista, and J. C. Barbosa. 2017. *Bacillus* species for controlling root-knot nematodes in development in sugar cane. *Nematropica* 47:106-113.

Root-knot nematodes cause significant loss and may decrease the productive life of sugar cane in a field. The predominate method for the management of root-knot in sugar cane is by nematicides that face increasing restrictions. Biological control has the potential as an alternative control method. *Bacillus* spp. were evaluated for the control of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* in sugar cane seedlings. Seedlings of sugar cane cultivar 'RB 86-7515' were planted individually into 10-L pots containing sterilized coarse sand/soil (2:1). Applications of *B. subtilis* ( $1 \times 10^8$  U.F.C / mL, 10 L/ha), *B. firmus* ( $1 \times 10^8$  U.F.C / mL, 10 L/ha), *B. amyloliquefaciens* ( $1 \times 10^8$  U.F.C / mL, 10 L/ha), and Carbofuran 350 SC (5 L/ha) were made and the seedlings inoculated with 5,000 eggs and second stage juveniles (J2) of *M. incognita* or *M. javanica*. The control consisted of inoculated plants untreated with bacteria or nematicide. At 100 and 150 days after applying the treatments, plant height, plant weight, root weight, numbers of tillers, and quantity of eggs, and J2 of *M. incognita* and *M. javanica* in the roots of each plant were evaluated. In the pot assay, all treatments increased the number of tillers, but did not affect the number of nematodes recovered.

*Key words:* biological control; *Meloidogyne incognita*; *Meloidogyne javanica*; *Saccharum* sp.

---

### RESUMO

Ferreira, R. J., P. L. M. Soares, R. B. Carvalho, J. M. Santos, E. S. P. Batista, e J. C. Barbosa. 2017. Espécies de *Bacillus* no controle de nematoides das galhas e no desenvolvimento de cana-de-açúcar *Nematropica* 47:106-113.

Os nematoides das galhas podem causar perdas significativas e podem diminuir a vida produtiva da cultura da cana-de-açúcar. Um dos principais métodos utilizados para o controle de nematoides é o químico, que por sua vez tem apresentado restrições ecotoxicológicas. O controle biológico tem potencial como controle alternativo para o problema. Portanto, neste estudo foi avaliado o efeito de diferentes espécies de *Bacillus* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* e no desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar. Mudas 'RB 86-7515' foram plantadas individualmente em vasos de 10 L contendo substrato autoclavado à base de areia grossa e terra (2:1). Em seguida as bactérias *B. subtilis* (10 L/ha), *B. firmus* (10 L/ha), *B. amyloliquefaciens* (10 L/ha) e o nematicida químico Carbofurano 350 SC (5 L/ha – tratamento padrão) foram aplicados e as mudas inoculadas com 5.000 ovos e juvenis de segundo estágio de *M. incognita* e *M. javanica*, em vasos separados, além de uma testemunha apenas com nematoides. Aos 100 e 150 dias após a inoculação e aplicação dos tratamentos procederam-se as avaliações dos parâmetros da planta: altura da parte aérea, massa fresca das partes aéreas, massa fresca das raízes, o número de perfilhos e o número de ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* e *M. javanica* nas raízes das plantas. Todos os tratamentos promoveram o aumento o número de perfilhos, mas não controlaram os nematoides.

*Palavras-Chave:* Controle biológico; *Meloidogyne incognita*; *Meloidogyne javanica*; *Saccharum* sp.

## INTRODUÇÃO

A produção total de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) moída na safra 2013/14 foi de 658,8 milhões de toneladas, com aumento de 11,9% em relação à safra 2012/13, que foi de 588,9 milhões de toneladas, significando um acréscimo de 69,9 milhões de toneladas em relação à safra anterior. O estado de São Paulo permanece como o maior produtor, concentrando 51,43% (4.678,8 mil hectares) da área plantada (Conab, 2014).

Dentre os problemas fitossanitários que podem afetar a cultura da cana-de-açúcar, estão os nematoides, que podem comprometer a produtividade e a longevidade do canavial (Dinardo-Miranda, 2008). Mais de três centenas de espécies já foram encontradas associadas à cultura, todavia, *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood, além de *Pratylenchus zae* (Graham), são as mais frequentes e consideradas espécies de maior importância econômica (Cadet e Spaul, 2005).

Em áreas comerciais, *M. javanica* pode causar 20 a 30% de redução de produtividade no primeiro corte de variedades suscetíveis e *M. incognita* pode ocasionar perdas ainda maiores, ao redor de 40%. Em casos em que a variedade atacada é suscetível e os níveis populacionais estão elevados, as perdas podem chegar até 50% da produtividade (Dinardo-Miranda, 2008).

Atualmente, o controle de nematoides na cana-de-açúcar é feito principalmente com o auxílio de nematicidas químicos (Novaretti e Reis, 2009). Quando comparado à rotação de culturas, o uso deste método de controle é mais fácil e prático de ser utilizado, devido ser conduzido por vários anos até que seja possível a reforma da área cultivada (Halbrent e James, 2003). Entretanto, apesar de ser eficiente, a alta toxicidade causada pelos nematicidas químicos, tem levado ao longo dos últimos anos à busca de alternativas menos prejudiciais ao ser humano, meio ambiente e animais. De acordo com Berry *et al.* (2009), se os nematicidas forem retirados do mercado, os agricultores teriam poucas opções de manejo para o controle de nematoides e passariam a ter dificuldades em manter a produtividade da cana-de-açúcar.

Uma alternativa para o uso de nematicidas químicos que foi pouco investigada na cultura é o desenvolvimento e a utilização do controle biológico. Este método tem se destacado como alternativa viável, de fácil aplicação, muitas vezes de menor custo do que o químico e com o objetivo de diminuir as perdas (Berry *et al.*, 2009).

Entre os inimigos naturais identificados como potenciais agentes de controle biológico

de nematoides, alguns são bactérias, tais como algumas espécies de *Bacillus*. Estas bactérias podem ser encontradas na rizosfera das plantas e por esta característica são também conhecidas como rizobactérias. Possuem capacidade de invadir os tecidos internos das plantas, ou seja, são endofíticas facultativas, com potencial para favorecer o desenvolvimento das plantas e/ou promover o controle biológico de nematoides (Stirling 1991, Siddiqui e Mahmood 1999, Sturz e Nowak 2000, Tian *et al.*, 2007). Essas bactérias têm a capacidade de produzir antibióticos, enzimas e toxinas, que agem diretamente, causando a mortalidade dos diferentes estádios de desenvolvimento dos nematoides e/ou indiretamente no comportamento, na alimentação ou na reprodução destes, atuando no processo de reconhecimento planta-hospedeiro, na indução de resistência, diminuindo a infecção das raízes e/ou proporcionando o desenvolvimento saudável da planta (Mankau 1980, Stirling 1991, Siddiqui e Mahmood 1999, Perry e Moens, 2005, Tian *et al.* 2007, Machado *et al.*, 2012).

Diante do exposto o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de *Bacillus* spp. no controle de *M. incognita* e *M. javanica* e no desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em vasos a céu aberto no Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal no período de 16/02 a 10/08/2014. As médias das temperaturas máximas, médias e mínimas no período foram de 28,64; 21,59; e 15,86°C, respectivamente, e a pluviosidade acumulada no período foi de 1.339 mm.

A população de *M. javanica* utilizada foi oriunda de área de cultivo comercial de quiabeiro [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.]. na região de Piacatu-SP e a população de *M. incognita* oriunda de área de cultivo de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) na região de Barreiras – BA. As populações foram previamente identificadas com base nos caracteres morfológicos do padrão perineal, preparado conforme Taylor e Netscher (1974), na morfologia da região labial dos machos (Eisenback *et al.*, 1981) e no fenótipo isoenzimático para esterase, obtido pela técnica de Esbenshade e Triantaphyllou (1990).

Ambas as populações de *Meloidogyne* spp. foram mantidas em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicom* L.) “Santa Cruz Kada Gigante” e multiplicados em plantas de berinjela em casa de vegetação. A partir das raízes de berinjela infectadas, as mesmas foram processadas por

trituração em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio de acordo com técnica de Hussey e Barker (1973), obtendo uma suspensão de ovos e juvenis de segundo estágio (J2). A concentração das suspensões de ovos e J2 de ambas as espécies foram estimadas com auxílio de uma câmara de contagem de Peters (Southey, 1970), em microscópio fotônico e ajustadas de modo a prover o inóculo desejado de 500 ovos e juvenis de segundo estágio (J2) em 1 mL de suspensão.

Foram preparados vasos de plásticos de 10 L contendo substrato constituído por uma mistura de areia e terra autoclavada (a  $120^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 1 atm por uma hora), na proporção de (2:1). O substrato foi irrigado e foram transplantadas mudas de cana-de-açúcar 'RB 86-7515' com 45 dias formadas a partir de toletes de aproximadamente 4 cm plantados em substrato autoclavado à base de fibras de coco Plantmax®. Cerca de 15 dias após o transplante, as raízes de cada planta foram parcialmente descobertas para aplicações de 2,5 mL de suspensão aquosa, contendo  $1 \times 10^8$  U.F.C. /mL de *Bacillus subtilis*, *B. firmus*, e *B. amyloliquefaciens* (10 L/ha) separadamente, configurando três tratamentos com bactérias. Estes foram cedidos pela empresa Stoller do Brasil.

Como tratamento padrão, utilizou-se o nematicida químico Carbofurano 350 SC, cuja dose recomendada pelo fabricante para a cultura da cana-de-açúcar é de 5L/ha. Foram distribuídas uniformemente as suspensões referentes a cada tratamento, próximo às raízes. A seguir, as raízes de cada planta foram inoculadas com 10 mL de suspensão contendo 5.000 ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de cada uma das espécies em vasos separados. Posteriormente, as raízes foram recobertas com o substrato. O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 5$  (duas espécies de nematoides x com cinco tratamentos) e cinco repetições para cada uma das avaliações realizadas, para ambas espécies de *Meloidogyne*.

No decorrer da condução dos experimentos, o substrato nos vasos foi irrigado duas vezes ao dia, tendo em vista evitar-se a lixiviação dos produtos.

Aos 15 e 30 dias após a aplicação dos tratamentos e inoculação das raízes, foi realizada avaliação visual de fitotoxidez proporcionada pelos produtos, comparando as plantas tratadas com o aspecto normal de plantas de cana-de-açúcar. Aos 100 e 150 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos foram feitas as avaliações da altura da parte aérea (APA) em cm, massa fresca das partes aéreas (MFPA) em g, massa fresca das raízes (MFR) em g, número de perfilhos e o número de ovos + juvenis de segundo estágio de *M. javanica* e *M. incognita* nas raízes.

Os nematoides foram extraídos das raízes pelo método de "Hussey e Barker (1973)" adaptado por Bonetti e Ferraz (1981). A seguir, a população dos nematoides nas amostras foram estimadas ao microscópio fotônico, com auxílio da câmara de contagem de Peters (Southey, 1970). As análises de variância foram realizadas com o software Agroestat (Barbosa e Maldonado, 2011), através do teste F e quando significativo aplicado o Teste de Duncan para comparação de médias.

## RESULTADOS

Nas condições do presente estudo, para todos os tratamentos com *Bacillus* spp. em ambos os ensaios, não foi constatada a ocorrência dos sintomas visuais de fitotoxidez nas plantas de cana-de-açúcar.

Analisando-se a reprodução das espécies do nematoide das galhas sobre a variedade de cana-de-açúcar 'RB 86-7515', sob influência de todos os tratamentos e a testemunha, verificou-se o aumento na população de *M. incognita*, em relação a *M. javanica*, aos 100 DAA. Aos 150 DAA, *M. incognita* provocou significativa redução no número de perfilhos, na altura e na massa fresca das partes aéreas. Contudo, ao analisarmos a tabela de desdobramento (Tabela 2), não houve diferenças significativas nas variáveis, quando comparadas às espécies de *Bacillus* para a testemunha com nematoides. Isso evidencia que não foi detectada maior agressividade de uma em relação à outra espécie de nematoide, apesar de ambas terem apresentado alta população nas raízes e fator de reprodução  $FR > 1$ , segundo Oostenbrink (1966). Portanto, a variedade é suscetível e boa hospedeira para ambas as espécies (Tabela 1). Aos 100 DAA, sob influência de todos os tratamentos e da testemunha, a massa fresca das raízes das plantas inoculadas com *M. javanica* foi menor, no entanto, aos 150 dias, não houve diferença significativa.

Para a altura da parte aérea, o tratamento com *B. subtilis* (10 L/ha) reduziu o desenvolvimento em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Para a interação espécie e tratamento, aos 100 DAA, *B. subtilis* (10 L/ha) causou diminuição da altura da planta quando infectada por *M. javanica* em relação aos demais tratamentos (Tabela 2). *Bacillus amyloliquefaciens* aumentou o número de perfilhos em relação à testemunha, quando infectada com *M. javanica* (Tabela 2). A dose de 10 L/ha com *B. subtilis* utilizada comprometeu o desenvolvimento desta variável, assim como a menor população desta espécie estimada em relação à outra foi capaz de comprometer mais o desenvolvimento das raízes.

O maior aumento da massa fresca das partes aéreas foi obtido com Carbofurano 350 SC (5 L/ha), em relação aos demais tratamentos. Todos os

Tabela 1. Análise de variância relativa ao desenvolvimento e número de ovos e juvenis de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* na 'RB 86 - 7515' de cana-de-açúcar, quando submetidas à aplicação de espécies de *Bacillus*, comparada ao padrão químico e testemunha sem aplicação. Avaliações realizadas nos dias 16/02 e 10/08/2014, aos 100 e 150 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA), respectivamente.

Espécie	Altura da parte aérea (cm)		Massa fresca da parte aérea (g)		Massa fresca das raízes (g)		Número de perfilhos		Ovos e J2 nas raízes	
	100 DAA	150 DAA	100 DAA	150 DAA	100 DAA	150 DAA	100 DAA	150 DAA	100 DAA	150 DAA
<i>M. javanica</i>	39,13	59,03 a	211,85	465,50 a	118,50 b	91,00	4,35	5,65 a	15342 b	93339
<i>M. incognita</i>	37,29	43,42 b	152,75	210,85 b	146,45 a	87,95	4,40	4,40 b	229564 a	91720
Teste F	1,11 <sup>NS</sup>	20,14**	2,42 <sup>NS</sup>	25,64**	5,99*	0,08 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	4,82*	23,09**	0,02 <sup>NS</sup>
Tratamento										
1. <i>Bacillus subtilis</i>	29,61 b	37,81 c	184,75	202,75 c	136,87	80,00	7,37 a	5,12 a	51497	57910
2. <i>Bacillus firmus</i>	39,97 a	45,60 ab	155,75	277,62 bc	128,50	88,75	3,50 b	5,50 a	173324	62285
3. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	42,06 a	52,80 b	259,87	395,25 ab	142,12	94,62	5,37 ab	5,75 a	131467	243288
4. Carborfurano 350 SC	38,50 a	65,26 a	154,62	555,12 a	142,12	106,75	2,87 b	5,87 a	81440	54151
5. Testemunha (com nematoides)	40,91 a	54,66 ab	156,50	260,12 bc	129,37	77,25	2,75 b	2,87 b	174538	45014
Teste F	6,52**	6,98**	1,13 <sup>NS</sup>	6,20**	0,29 <sup>NS</sup>	0,99 <sup>NS</sup>	5,15**	3,77*	1 <sup>NS</sup>	2 <sup>NS</sup>
Teste F para Interação	6,91**	1,18 <sup>NS</sup>	2,20 <sup>NS</sup>	0,63 <sup>NS</sup>	1,35 <sup>NS</sup>	1,09 <sup>NS</sup>	0,90 <sup>NS</sup>	3,03*	2 <sup>NS</sup>	2 <sup>NS</sup>
Espécie x Tratamento										
CV(%)	14,44	21,48	65,96	47,02	27,27	37,68	56,33	35,83	20,62	32,21

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. \*\*Diferença significativa pelo teste F a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup>Diferença não significativa. Para a análise estatística, os dados da população de nematoides foram transformados em log(x+5). Nos tratamentos realizados com as espécies de *Bacillus* foram utilizados 10 L/ha de solução aquosa em volume de calda de 150 L/ha na concentração de  $1 \times 10^8$  U.F.C/mL. O tratamento Carborfurano 350 SC foi realizado na dose de 5 L p.c/ha.

Tabela 2. Desdobramento do efeito da interação entre espécies de nematode e tratamentos sobre as variáveis altura da parte aérea (cm) e número de perfilhos, aos 100 e 150 dias após a aplicação (DAA). Jaboticabal, SP.

Tratamento	Altura da parte aérea (cm)		Número de perfilhos		Teste F	Teste F	Teste F
	100 DAA	150 DAA	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>			
1. <i>Bacillus subtilis</i>	20,37 bB	38,85 aA	6 aA	5 bcA	22,41**	0,96 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>
2. <i>Bacillus firmus</i>	41,85 aA	38,07 aA	5 aA	7 abA	0,95 <sup>ns</sup>	2,47 <sup>ns</sup>	2,47 <sup>ns</sup>
3. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	39,00 aA	44,00 aA	4 aB	8 aA	1,69 <sup>ns</sup>	12,49**	12,49**
4. Carborfurano 350 SC	40,85 aA	36,15 aA	5 aA	7 abA	1,45 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>
5. Testemunha (com nematoides)	43,85 aA	37,97 aA	3 aA	3 cA	2,27 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>
Teste F	12,07**	1,36 <sup>ns</sup>	-	2 <sup>ns</sup>	-	5**	-

Médias seguidas de letras iguais minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. \*\*Diferença significativa pelo teste F a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup>não significativa. Nos tratamentos realizados com as espécies de *Bacillus* foram utilizados 10 L/ha de solução aquosa em volume de calda de 150 L/ha na concentração de  $1 \times 10^8$  U.F.C/mL. O tratamento Carborfurano 350 SC foi realizado na dose de 5 L p.c/ha.



tratamentos aumentaram o número de perfilhos em relação à Testemunha (com nematoides), aos 150 DAA, apesar de não terem reduzido o número de nematoides na cultura de cana-de-açúcar 'RB 86-7515' (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

Com relação ao aumento populacional de *M. incognita*, em relação a *M. javanica*, aos 100 DAA, de acordo com a Tabela 1, resultados obtidos por Dinardo-Miranda (1999) e Garcia *et al.* (1997) constataram maior reprodução de *M. incognita* em relação a *M. javanica* em outras variedades. Barbosa *et al.* (2009) constataram que *M. javanica* foi mais agressivo do que *M. incognita* para o desenvolvimento das matérias frescas das partes aéreas e das raízes na referida cultura, em variedades diferentes, apesar da menor multiplicação da espécie, diferentemente ao obtido no presente estudo. De fato, vários trabalhos constataram que muitos são os fatores que interferem nas perdas causadas pelos nematoides, entre os quais se destacam a variedade da cultura, a espécie de nematoide e o nível de infestação (Dinardo-Miranda, 1990; Dinardo-Miranda, 1999; Barbosa *et al.*, 2009; Barbosa *et al.*, 2013).

Os menores ganhos da promoção da altura da parte aérea foram obtidos com o tratamento *B. subtilis* (10 L/ha) aos 100 e 150 DAA, (Tabela 1).

Para a interação espécie e tratamento, aos 100 DAA, *B. subtilis* (10 L/ha) diminuiu a altura da planta quando infectada por *M. incognita* em relação aos demais tratamentos (Tabela 2). No entanto, Cardozo e Araújo (2011), ao avaliarem a aplicação de *B. subtilis* em vinhaça (suspensão aquosa) no controle de *Meloidogyne* ssp. em solo naturalmente infestado, observaram o crescimento da cana e a redução populacional dos nematoides de galhas. Araújo e Marchesi (2009), avaliaram o efeito de *B. subtilis* (PRBS-1) como promotor de crescimento e agente de controle de nematoides formadores de galha (*Meloidogyne* spp.) no cultivo de tomateiro e constataram a redução da massa fresca de raízes.

A massa fresca das raízes das plantas inoculadas com *M. javanica* foi menor aos 100 DAA, (Tabela 1). Em outro estudo, a utilização de isolados de *Bacillus* spp. no controle de *M. javanica* na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em casa de vegetação, não aumentou significativamente a massa de raízes (Fernandes *et al.*, 2013). Todavia, Vaz *et al.* (2011) verificaram que a microbiolização de sementes com *B. subtilis* no controle de populações puras e mistas de *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiros cultivados em casa de vegetação, promoveu o aumento da biomassa das plantas. Alguns autores já observaram que as rizobactérias podem

apresentar efeitos benéficos, prejudiciais ou neutros, dependendo da cultura, espécie de rizobactéria e isolado utilizado (Luz, 1996; Schippers *et al.*, 1987; Vaz *et al.*, 2011).

Para a interação espécie e tratamento, aos 150 DAA, *B. amyloliquefaciens* aumentou o número de perfilhos em relação à testemunha, quando infectada com *M. javanica* (Tabela 2). Segundo Silva *et al.* (2007), Wiedenfeld (2003) e Silva *et al.* (2008) quanto maior perfilhamento, maior o crescimento inicial e maior uniformidade, atingindo bom estande, o que possibilita o rápido fechamento das entrelinhas e o controle mais efetivo das plantas daninhas; além da cobertura homogênea do solo, que promove eficiente aproveitamento da energia luminosa pela planta, podendo refletir em maior produtividade. Dinardo-Miranda *et al.* (2003) avaliaram o efeito dos nematicidas aldicarbe, carbofurano e terbufós no plantio da cana-de-açúcar, em áreas infestadas por nematoides, e constataram que os mesmos contribuíram para incrementos de produtividade variando de 14,2 a 25,5 t/ha.

O maior aumento da massa fresca das partes aéreas foi obtido com o nematicida Carbofurano 350 SC (5 L/ha), em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Araújo *et al.* (2012), com o tratamento de sementes de soja 'BRS 282' com carbofurano ou *B. subtilis*, que contribuíram para ganhos significativos, no crescimento da referida cultura em solo infestado com *Meloidogyne* sp. *B. subtilis* é considerada promotora de crescimento de plantas, devido à produção de fitorreguladores vegetais na rizosfera, que promovem o desenvolvimento das plantas (Machado *et al.*, 2012).

De acordo com Barros *et al.* (2003), o uso de nematicidas de forma contínua em canaviais tem sido questionado quanto à eficácia de controle e inconstância de resultados. De fato, Dinardo-Miranda *et al.* (2010) conduziram oito experimentos em canaviais implementados durante a safra (meados de março) e observaram o efeito da aplicação dos nematicidas sobre os nematoides somente em um dos experimentos. Provavelmente estes resultados estão relacionados com o período subsequente onde ocorre redução de temperatura e precipitação, condições ruins ao desenvolvimento das raízes e dos nematoides.

A densidade populacional de espécies de nematoides aumentou em várias áreas após o tratamento com nematicidas, quando comparadas com áreas não tratadas. Os nematicidas aparentemente protegem o desenvolvimento das raízes das plantas dos danos, resultando em uma grande biomassa de raízes. Contudo, após o período de ação do produto, os nematoides sobreviventes

poderão se reproduzir abundantemente devido à maior quantidade de massa de raízes disponíveis para o parasitismo (Schmitt *et al.*, 1983; Sipes e Schmitt, 1998). Tal fato que foi observado neste e em outros estudos, pode ser atribuído ao período curto de ação dos nematicidas frente ao rápido ciclo de vida dos nematoides (20 a 45 dias); afinal, o período entre intervenções com nematicidas costuma ser de 12 a 18 meses. Segundo um estudo realizado por Dinardo-Miranda e Menegatti (2004), o carbofurano proporcionou mais de 90% de eficiência de controle de *M. javanica*, *P. zaeae*, e *P. brachyurus* aos 90 dias após a aplicação em relação à testemunha. Portanto, pode haver redução inicial significativa dos níveis populacionais de nematoides associados às raízes na cana-de-açúcar permitindo a formação de maior massa de raízes, como observado por Dinardo-Miranda *et al.*, 2010.

Considerando a ação nematicida do produto e que a cultura tem um longo ciclo, a população remanescente terá condições adequadas e favoráveis para o aumento populacional. No entanto, poderá proporcionar incrementos significativos na produtividade conforme constatado por (Dinardo-Miranda *et al.*, 1995; Dinardo-Miranda e Menegatti, 2010; Dinardo-Miranda *et al.*, 2010).

No presente estudo, todos os tratamentos aumentaram o número de perfilhos em relação à Testemunha (com nematoides), aos 150 DAA, apesar de não terem reduzido o número de nematoides na cultura de cana-de-açúcar 'RB 86-7515' (Tabela 1). Fernandes *et al.* (2013) verificaram que pela utilização de isolados de *Bacillus* spp. no controle de *M. javanica* na cultura do feijoeiro em casa de vegetação, nenhum isolado bacteriano reduziu o número de galhas induzidas pelo nematoide. Tais resultados são diferentes dos obtidos por Fernandes *et al.* (2014), que constataram que a combinação entre microbiolização de sementes com *B. subtilis* e a aplicação de *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) no solo reduziram em mais de 80% o número de ovos e J2 de *M. javanica* em tomateiro, em comparação com a adoção de apenas um dos tratamentos isoladamente. Diferentemente dos resultados observado por Araújo e Marchesi (2009), que constataram que *B. subtilis* (PRBS-1) reduziu a reprodução de nematoide formador de galha em raízes de tomateiro, sob condições de casa de vegetação. De fato já foi observado que a espécie e até o isolado do agente de controle biológico pode apresentar eficácia de controle diferente dependendo da cultura e da espécie de nematoide utilizada (Hidalgo-Díaz *et al.*, 2000; Dallemole-Giaretta, 2008).

Com os resultados apresentados no presente trabalho, é possível que muitos fatores interferiram na grandeza dos danos causados por nematoides,

entre os quais as espécies presentes na área, o nível populacional, a variedade cultivada e as condições das raízes para penetração dos nematoides. Variedades suscetíveis e níveis populacionais elevados, reduzem as produtividades das soqueiras e conseqüentemente a longevidade do canavial (Dinardo-Miranda, 2008).

Nas condições do presente trabalho e de acordo com os dados obtidos, conclui-se que todos os tratamentos com *Bacillus* (*B. subtilis*; *B. firmus*, e *B. amyloliquefaciens* 10 L/ha, 1x10<sup>8</sup> UFC/ mL) e Carbofurano 350 SC (5 L/ha) aumentam o número de perfilhos, mas não controlam *M. javanica* e *M. incognita*.

## LITERATURA CITADA

- Araújo, F. F., R. J. Bragante, and C. E. Bragante. 2012. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 42:220-224.
- Araújo, F. F., and G. V. P. Marchesi. 2009. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. *Ciência Rural* 39:1558-1561.
- Barbosa, J. C., and W. Maldonado Jr. 2011. *Agroestat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agrônômicos*, Versão 1.1.0.696, Jaboticabal.
- Barbosa, B. F. F., J. M. Santos, J. C. Barbosa, P. L. M. Soares, A. R. Ruas, and R. B. Carvalho. 2013. Aggressiveness of *Pratylenchus brachyurus* to sugarcane, compared with key nematode *P. zaeae*. *Nematropica* 43:119-130.
- Barbosa, B. F. F., J. M. Santos, P. L. M. Soares, and J. C. Barbosa. 2009. Avaliação comparativa da agressividade de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* à variedade SP 911049 de Cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira* 33:243-247.
- Barros, A. C. B., R. M. Moura, and E. M. R. Pedrosa. 2003. Influência da aplicação conjunta de nematicida com calcário, cupinicida ou torta de filtro na eficiência do nematicida em cana-de-açúcar. P. 236 in: Congresso Brasileiro de Nematologia, 25. Petrolina. Anais: Embrapa.
- Berry, S. D., V. W. Spaul, and P. Cadet. 2009. Field assessment of biologically-based control products against nematodes on sugarcane in South Africa. *African Plant Protection* 15:1-12.
- Bonetti, J. I. S., and S. Ferraz. 1981. Modificações do método de Hussey and Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*. 6:553.
- Cadet, P., and V. W. Spaul. 2005. Nematode parasites of sugarcane. Pp. 645-674 in UC, M. Luc, R. A. Sikora, and J. Bridge (eds.) . 2nd Edition. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture* Cambridge, UK: CABI Publishing.

- Cardozo, R. B., and F. F. Araujo. 2011. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15:1283-1288.
- Companhia Nacional de Abastecimento. 2014. Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-Açúcar, Segundo Levantamento, agosto. Companhia Nacional de Abastecimento Brasília: Conab.
- Dallemole-Giaretta, R. 2008. Isolamento, identificação e avaliação de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de tomateiro. Viçosa.. (Tese de Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, (MG), 83 p.
- Dinardo-Miranda, L. L. 1990. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *Pratylenchus zeae* (Nemata, Pratylenchidae) a duas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Dinardo-Miranda, L. L. 1999. Reação de variedades de cana-de-açúcar ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. *Nematologia Brasileira* 23:76-83.
- Dinardo-Miranda, L.L. 2008. Fitossanidade. Pp. 405-422 in L.L. Dinardo-Miranda, A. C. M. Vasconcelos, M. G. A. Landel (eds.) Cana-de-açúcar. Campinas, SP: Instituto Agrônomo SP.
- Dinardo-Miranda, L. L., and J. V. Fracasso. 2010. Efeito da torta de mamona sobre populações de nematoides fitoparasitos e a produtividade da cana-de-açúcar, *Nematologia Brasileira* 34:68-71.
- Dinardo-Miranda, L. L. and C. C. Menegatti. 2004. Efeito de nematicidas aplicados no plantio de na soqueira da cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira* 28:87-96.
- Dinardo-Miranda, L. L., J. V. Fracasso, and V. P. Costa. 2010. influência da época de aplicação de nematicidas em soqueiras colhidas em início de safra sobre as populações de nematoides e a produtividade da cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira* 34:106-117.
- Dinardo-Miranda, L L., M. A. Gil, A. L. Coelho, V. Garcia and C. C. Menegatti. 2003. Efeito da torta de filtro e de nematicidas sobre as infestações de nematoides e a produtividade da cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira* 27:61-67.
- Dinardo-Miranda, L. L., W. R. T. Novartei, J. L. Morelli, and E. J. Nelli. 1995. Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em relação a *Meloidogyne javanica* em condições de campo. *Nematologia Brasileira*, 19:60-66.
- Eisenback, J. D., H. Hirschmann, J. N. Sasser, and A. C. Triantaphyllou. 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) with a pictorial key. Pp. 48 in Raleigh, NC: The Departments of Plant Pathology and Genetics of North Carolina State University and United States Agency for International Development.
- Esbenshade, P. R., and A. C. Triantaphyllou. 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22:10-15.
- Fernandes, R. H., E. A. Lopes, B. S. Vieira, and A. F. Bontempo. 2013. Controle de *Meloidogyne javanica* na Cultura do Feijoeiro com Isolados de *Bacillus* spp. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas* 7:76-81.
- Fernandes, R. H., B. S. Vieira, C. A. G. Fuga and E. A. Lopes. 2014. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. *Bioscience Journal* 30:194-200.
- Garcia, V., S. F. Silva, e L. L. Dinardo-Miranda. 1997. Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em relação a *Meloidogyne incognita*. *Revista Nacional do Alcool e Açúcar* 17:14-19.
- Halbrent, J. M., and A. L. M. James. 2003. Crop rotation and other cultural practices. Pp. 909-930 in Z. X. Chen, S. Y. Chen, and D. W. Dickson (eds.) *Nematology advances and perspectives – nematode management and utilization*. Beijing: CABI Publishing.
- Higalzo-Diaz, L., J. M. Bourne., B. R. Kerry, and M. G. Rodríguez. 2000. Nematophagous *Verticillium* spp. in soils infested *Meloidogyne* spp. in Cuba: isolation and screening. *International Journal of Pest Management* 46:277-284.
- Hussey, R. S., and K. R. Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.
- Luz, W. C. 1996. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e bioproteção. *Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo* 4:1-49.
- Machado, V., D. L. Berlitz, A. T. S. Matsumura, R. C. M. Santin, A. Guimarães, M. E. Silva, e L. M. Fiuza. 2012. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. *Oecologia Australis* 16:165-182.
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematode pests by natural enemies. *Annual Review of Phytopathology* 18:415-440.
- Novaretti, W. R. T., and A. M. Reis. 2009. Influência do método de aplicação de Nematicida no controle de *Pratylenchus zeae* em soqueiras de

- cana-de-açúcar e definição dos níveis de danos e de controle. *Nematologia Brasileira* 33: 83-89.
- Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool* 66:1-46.
- Perry, R. N., and M. Moens. 2005. *Plant nematology*. Pondicherry: Biddles. 447 pp.
- Schippers, B., A. W. Bakker, and P. A. H. M. Bakker. 1987. Interações of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25 339–358.
- Schmitt, D. P., F. T. Corbin, and L. A. Nelson. 1983. Population dynamics of *Heterodera glycines* and soybean response in soils treated with selected nematicides and herbicides. *Journal of Nematology* 15:432-437.
- Siddiqui, Z. A., and I. Mahmood. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: A review. *Bioresource Technology* 69:167-179.
- Silva, M. A., G. J. C. Gava, M. M. Caputo, R. P. Pincelli, E. M. Jerônimo, and J. C. S. Cruz. 2007. Uso de reguladores de crescimento como potencializadores do perfilhamento e da produtividade em cana-soca. *Bragantia* 66:545-552.
- Silva, M. A., E. M. Jeronimo, and A. D.'Col Lúcio. 2008. Perfilhamento e produtividade de cana-de-açúcar com diferentes alturas de corte e épocas de colheita. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43:979-986.
- Sipes, B. S., and D. P. Schmit. 1998. Nematodes-Pesticide Interactions. 1998. Pp. 173-185 in J. M. Bartels, J. M Hatfield, P. S. Baenziger, and J. M. Bigham (eds). *Plant nematode Interactions*, 36th edition. Madison, WI.
- Southey, J. F. 1970. Laboratory for work with plant and soil nematodes. P. 148 5th ed. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Bulletin, 2).
- Stirling, G. R. 1991. *Biological Control of Plant Parasitic Nematode: Progress, Problems, and Prospects*. Wallington, UK: CAB International, 282 pp.
- Sturz, A. V., and J. Nowak. 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology* 15:183-190.
- Taylor, A. L., and C. Netscher. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica* 20:268-269.
- Tian, B.Y.; J.K. Yang, L. H. Lian, C. Y. Wang, and, K. Q. Zhang. 2007. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. *Applied Microbiology and Biotechnology* 74:372-380.
- Vaz, M. V., E. J. Canedo, J. C. Machado, B. S. Vieira, and E. A. Lopes. 2011. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. *Perquirere* 8:203 – 212.
- Wiedenfeld, B. 2003. Enhanced sugarcane establishment using plant growth regulators. *Journal of American Society of Sugarcane Technologists* 23:48-61.

---

Received:

2/III/2015

Accepted for publication:

4/II/2016

Recibido:

Aceptado para publicación: