

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**POTENCIAL IN VITRO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O
CONTROLE DE NEMATÓIDES-CHAVE DA CANA-DE-
AÇÚCAR, DINÂMICA POPULACIONAL E MANEJO DE**
Pratylenchus zea.

Gleina Costa Silva Alves

Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**POTENCIAL IN VITRO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O
CONTROLE DE NEMATÓIDES-CHAVE DA CANA-DE-
AÇÚCAR, DINÂMICA POPULACIONAL E MANEJO DE**
Pratylenchus zeae.

Gleina Costa Silva Alves

Orientador: Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola.

JABOTICABAL - SÃO PAULO- BRASIL

Fevereiro de 2010

Alves, Gleina Costa Silva
A474p Potencial in vitro de rizobactérias para o controle de nematóides-chave da cana-de-açúcar, dinâmica populacional e manejo de *Pratylenchus zeae*./Gleina Costa Silva Alves. -- Jaboticabal, 2010
xiii, 63 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Jaime Maia dos Santos
Banca examinadora: Marineide Mendonça Aguilera, Júlio Cesar Galli

Bibliografia

1. Nematóide. 2. Controle biológico. 3. Cana-de-açúcar. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.61:595.132

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GLEINA COSTA SILVA ALVES – Nascida em Ipameri- GO, em 22 de maio de 1984, é Engenheiro Agrônomo graduado pela Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Ipameri, GO, foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) com o trabalho: Dinâmica de vôo e seleção hospedeira do parasitóide *Trichogramma* spp. Desenvolveu trabalho de graduação intitulado: Levantamento de fitonematóides na cultura do algodoeiro em área com diferentes históricos culturais, na região de Ipameri-GO. Em março de 2008 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Entomologia Agrícola na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP – Jaboticabal, SP.), sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

DEDICO...

À minha mãe **Maria Abadia Mendes da Silva**

OFEREÇO...

A minha irmã **Ludimilla Costa Silva Alves** a qual admiro muito pela sua maturidade;

À minha sobrinha **Maria Vieira Alves de Aguiar** agradeço por ser um estímulo na minha vida.

HOMENAGEIO...

Meu namorado **Flávio Gonçalves de Jesus**, pela paciência, amor, incentivo incondicional e principalmente pelo seu bom coração.

AGRADECIMENTO EM ESPECIAL...

Ao meu orientador

Prof. Dr. Jaime Maia dos Santos

Ao meu co-orientador

Pedro Luiz Martins Soares

Pela orientação, amizade e os ensinamentos na minha formação
profissional

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, da inteligência e por sua presença constante.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Aos técnicos e amigos do laboratório de Nematologia, André Maurício, Sandra Sesso, Valmir Ribeiro, pela amizade e convivência, tornando as atividades do dia-a-dia mais fáceis e prazerosas.

Aos amigos de laboratórios, Adriana Figueiredo, Bruno Barbosa, Camila Kauffmann, Eduardo Almeida, Luciany Favoreto, Paulo Martineli, Rafael Bernal, Rivanildo Júnior, Samira Scaff, Sérgio Calzavara, Suelen Bernal, pela amizade.

Aos Professores do Departamento de Fitossanidade FCAV/UNESP – Jaboticabal, pelos ensinamentos.

Ao Professor Dr. Reginaldo Romeiro da Silva pelas informações preciosas no início da condução do trabalho.

Ao Professor Dr. José Carlos Barbosa pelo auxílio com a estatística.

Ao Professor Robson Thomaz Thuler pelo fornecimento de isolados bacteriano para a multiplicação para posterior instalação dos experimentos

Ao Pesquisador Silvio Viel da Usina São Carlos por ter concedido a área para montagem dos experimentos a campo.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade Ligia Fiorezzi, Márcia Macri, Lúcia Tarina, Zulene Ribeiro por toda atenção e colaboração.

Aos amigos Anderson Gonçalves, Gustavo Claudiano, Janaina Mondego, Joseane Rodrigues, Júlio Janini, Lílian Lúcia, Nara Elisa, Rose Tavares, pelo companheirismo e por tornar os meus dias em Jaboticabal sempre mais fáceis e divertidos.

A todos os meus familiares, principalmente minha avó Maria Mendes da Silva e minhas primas Ana Lúcia da Costa Mendes, Luciana da Costa Mendes e Lucinéia da Costa Mendes por sempre acreditar na minha capacidade.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiii
I INTRODUÇÃO.....	1
II REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspectos Gerais da Cultura.....	3
2.2. Cana-de-Açúcar Versus Nematóides.....	4
2.2.1. Hábito de parasitismo dos nematóides chaves da cultura da cana-de-açúcar.....	5
2.2.2. Manejo de nematóides em cana-de-açúcar	6
2.2.3. Rizobactérias no controle de nematóides em cana-de-açúcar.....	7
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Estudo da dinâmica de população de <i>Pratylenchus zae</i> em Cana-de- Açúcar.....	11
3.2. Efeito in vitro de 21 isolados de rizobactérias sobre a eclosão e motilidade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> e de <i>M. javanica</i> e sobre a motilidade de <i>Pratylenchus</i>	12

<i>zeae</i>	
3.2.1. Obtenção das subpopulações dos nematóides.....	12
3.2.2. Preparo das suspensões bacterianas.....	14
3.2.3. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a eclosão de juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> e de <i>M. javanica</i>	14
3.2.4. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a motilidade de juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> , de <i>M. javanica</i> e de <i>Pratylenchus zae</i>	15
4. Manejo de <i>Pratylenchus zae</i> em Cana-de-açúcar.....	16
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4.1. Estudo da dinâmica populacional de <i>Pratylenchus zae</i> em Cana-de-açúcar.....	18
4.2. Efeito in vitro de 21 Isolados de Rizobactérias sobre a Eclosão e Motilidade de Juvenis de Segundo Estádio de <i>Meloidogyne incognita</i> e de <i>M. javanica</i> e sobre a Motilidade de <i>Pratylenchus zae</i>	20
4.2.1. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a eclosão de juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> e de <i>M. javanica</i>	20
4.2.2. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a motilidade de juvenis de <i>Meloidogyne incognita</i> , de <i>M. javanica</i> e de <i>Pratylenchus zae</i>	26
4.3. Manejo de <i>Pratylenchus zae</i> em Cana-de-açúcar variedade SP87-365.....	37
V. CONCLUSÕES.....	42

VI. REFERÊNCIAS..... 43

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias, in vitro, por nove dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica $OD_{625}=0,2$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009	22
2	Eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne javanica</i> cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias in vitro, por nove dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica $OD_{625}=0,2$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	23
3	Eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias, in vitro, por seis dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica $OD_{625}=0,7$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2000.	24
4	Eclosão de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne javanica</i> cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias, in vitro, por seis dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica $OD_{625}=0,7$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	25
5	Atividade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> no período de nove dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica $OD_{625}=0,2$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	27
6	Atividade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne javanica</i> no período de nove dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica $OD_{625}=0,2$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	29
7	Atividades de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne incognita</i> no período de seis dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica $OD_{625}=0,7$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	31
8	Atividade de juvenis de segundo estágio de <i>Meloidogyne javanica</i> no período de seis dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica $OD_{625}=0,7$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	33

9	Atividade de formas ativas de <i>Pratylenchus zeae</i> no período de nove dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica $OD_{625}=0,2$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	35
10	Atividade de formas ativas de <i>Pratylenchus zeae</i> no período de seis dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica $OD_{625}=0,7$). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.	36
11	Média da população de nematóides extraídos de 100 cm ³ de solo pelo método de JENKINS, (1964) em cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP, 2009.	38
12	Média da população de nematóides extraídos de 10 g de raízes de cana-de-açúcar, pelo método de Coolen & D' Herde (1972). Jaboticabal-SP, 2009.	39
13	Média das variáveis biométricas altura e número de perfilhos de cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP, 2009	41

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Comparação do número de publicações, em porcentagem, sobre nematicidas, métodos gerais de controle e controle biológico de nematóides de 1974 a 2001.	6
2	Fotomicrografia dos principais caracteres morfológicos para identificação de <i>Pratylenchus zaeae</i> . A) Fêmea inteira. A seta indica a posição mais anterior da vulva nessa espécie que nas demais comumente encontradas no Brasil (barra da escala = 20 μ m). B) Extremidade anterior da fêmea com três anéis na região labial e nódulos basais do estilete achatados na parte superior, conforme	18
3	Dinâmica populacional de <i>Pratylenchus zaeae</i> na rizosfera e nas raízes de cana-de-açúcar, variedade SP87-365. Itápolis-SP. 2009.	19
4	Principais caracteres morfológicos para identificação de <i>Meloidogyne incognita</i> . A) Eletromicrografia de varredura do padrão perineal. B) Fotomicrografia da região anterior do macho (a seta indica a presença de anelações incompletas na região labial).	20
5	Principais caracteres morfológicos para identificação de <i>Meloidogyne javanica</i> . A) Eletromicrografia de varredura do padrão perineal (as setas indicam a presença dos campos laterais). B) Fotomicrografia da região anterior do macho (barra da escala = 10 μ m).	21

**POTENCIAL IN VITRO DE RIZOBACTÉRIAS PARA O CONTROLE DE
NEMATÓIDES-CHAVE DA CANA-DE-AÇÚCAR, DINÂMICA POPULACIONAL E
MANEJO DE *Pratylenchus zaeae*.**

RESUMO: No Brasil os nematóides-chave da cana-de-açúcar são *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zaeae*. Dentre as práticas de manejo o controle biológico é uma alternativa importante para as grandes culturas. Assim o objetivo deste trabalho foi, realizar um estudo da dinâmica de população de *P. zaeae* em área de cultivo de cana-de-açúcar, no período de março a novembro de 2009. avaliar in vitro a ação de 21 isolados de rizobactérias sobre a eclosão e motilidade de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita*, *M. javanica* e sobre a motilidade de formas ativas de *P. zaeae* e avaliar em campo, a influência do plantio na linha e na entrelinha com nematicidas sintéticos e um isolado bacteriano sobre a população de *P. zaeae*. Os isolados bacterianos FCAV 6, FCAV 8 e FCAV 10 apresentaram ação ovicida para *M. javanica*. Os isolados FCAV 5, FCAV 7 e *Bacillus amyloliquefaciens* mostraram-se promissores no controle biológico de *P.zaeae*. No campo o tratamento com rizobactéria FCAV 9 + adubo organomineral se mostrou superior aos demais em relação número de perfilhos. Estes resultados confirmam a potencialidade das rizobactérias para o controle de nematóides.

Palavras-chave: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, nematóides das lesões radiculares, controle biológico de nematóides.

**POTENTIAL IN VITRO RHIZOBACTERIA FOR THE CONTROL OF KEY
NEMATODE, FOR SUGAR CANE, POPULATION DYNAMICS AND
MANAGEMENT *Pratylenchus zaeae***

ABSTRACT: In Brazil, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *Pratylenchus zaeae* are key nematodes sugar cane. Among management practices for decreasing nematode infestation, biological control is an important alternative for the major crops. So, the objective was to carry a study of population dynamics of *P. zaeae* area in sugar cane in growing, to evaluate the in vitro the action of 21 isolates of rhizobacteria on hatching and motility of second stage juveniles (J2) of *M. incognita*, *M. javanica* and on the motility of active forms of *P. zaeae* and to assess in the field, the influence of planting in lines and rows with synthetic nematicides and a bacterial isolate on the population of *P. zaeae*. The bacterial isolates FCAV 6, FCAV 8 and FCAV 10 showed ovicidal action for *M. javanica*. Isolate C116 showed promise for the control of J2 of *M. javanica*. Isolates FCAV 5, FCAV 7 and *Bacillus amyloliquefaciens* have shown promise for the biological control of *P. zaeae*. In the treatments 5 (Isolate FCAV 9 in the rows) and 6 (Isolate FCAV 9 between rows), were superior to others for the biometric analysis. These results confirm the potential of rhizobacteria for control of nematodes

Key-words: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, root lesion nematode, biological control of nematodes.

I. INTRODUÇÃO

Embora a diversidade de nematóides em cana-de-açúcar seja maior que em muitas outras culturas, já tendo sido relatadas mais de 310 espécies de 48 gêneros nas diferentes regiões produtoras do mundo (CADET & SPAULL, 2005), em nosso País, apenas três espécies são consideradas pragas-chave da cultura, a saber: *Meloidogyne incognita*, (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood e *Pratylenchus zae* Graham. Entre os nematóides de galha, *M. javanica* é a mais agressiva (BARBOSA, 2008), inclusive a cana-de-açúcar é o seu hospedeiro tipo (SANTOS, 1997). Quanto à distribuição, *P. zae* vem sendo encontrada com maior freqüência nos canaviais do País (DINARDO-MIRANDA, 2005).

No campo, os sintomas de ataque de nematóides são manifestados em reboleiras de plantas menores e cloróticas, semelhante à "fome de minerais", murcha nas horas mais quentes do dia e, por fim, menor produtividade que as demais áreas da cultura. Esses sintomas na parte aérea são reflexos dos danos causados pelos nematóides às raízes. Além da sucção de nutrientes das raízes e injeção de toxinas, essas pragas causam lesões e, em geral, estão associados a microrganismos da rizosfera que contribuem para o processo de deterioração das raízes, comprometendo suas principais funções, tais como absorção e transporte de água e nutrientes e mesmo a sustentação das plantas (DINARDO-MIRANDA, 2008).

Os nematóides de hábito endoparasito sedentário, tais como as espécies de *Meloidogyne* Goeldi causam deformações nas raízes em formas de engrossamentos localizados, referidos como galhas, enquanto os endoparasitos migradores (*Pratylenchus* spp.) produzem extensas lesões alongadas, inicialmente avermelhadas que evoluem para necroses dos tecidos corticais. Em conseqüência, os sistemas radiculares das plantas se tornam pouco desenvolvidos, pobres em radículas e não funcionam adequadamente (DINARDO-MIRANDA, 2008).

Segundo FREITAS (2008), entre os métodos gerais de controle dos nematóides, a utilização de cultivares resistentes, a rotação de culturas e o controle químico são os mais utilizados. A utilização de cultivares resistente tem como principal limitação a

carência de fontes de resistência para as principais espécies e raças dos nematóides. A ampla gama de hospedeiros, incluindo plantas daninhas, por sua vez, é a principal dificuldade no uso da rotação de culturas, enquanto as implicações de ordem econômica, toxicológica e ambiental restringem, cada vez mais, a utilização do controle químico.

A fim de minimizar as perdas causadas pelos nematóides, o controle biológico vem se destacando como uma alternativa viável que reduz a população de nematóides pela ação de organismos antagonistas, não deixa resíduo nos produtos colhidos e não apresenta danos ao meio ambiente, comparáveis aos químicos.

Neste contexto as Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (BPCP) são citadas como agentes promissores no controle biológico de nematóides. A promoção de crescimento das plantas pode ser direta, por meio do aumento da taxa de germinação, crescimento de raízes, tubérculos, caules e colmos, além de aumento na floração e no rendimento (LUZ, 1996). Esses efeitos são resultantes da produção de fitormônios incluindo auxinas e citocininas, de ácido cianídrico, de enzimas como a ACC-deaminase, fixando o nitrogênio da atmosfera, mineralizando nutrientes, solubilizando o fósforo, oxidando o enxofre, aumentando a permeabilidade das raízes, o que estimula a absorção de nutrientes e produção de sideróforos, os quais seqüestram e solubilizam o íon férrico (ENEBAK et al., 1998).

A ação benéfica das rizobactérias, também, pode ser indireta por meio do controle de micro-organismos patogênicos. Quando a planta está sendo infectada por um patógeno, as rizobactérias podem atuar como agentes de controle biológico, através da produção de diferentes metabólitos bacterianos que afetam o patógeno, diretamente, tais como antibióticos e enzimas que degradam a parede celular (ENEBAK et al., 1998).

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos Gerais da Cultura

A cana-de-açúcar (*Saccharum* sp L). é uma Poácea semiperene originária da Ásia. Apresenta melhor comportamento nas regiões quentes cujo clima exhibe duas

estações distintas. Uma quente e úmida, para proporcionar a germinação, perfilhamento e desenvolvimento vegetativo, seguido de outra fria e seca, para promover a maturação e conseqüente acúmulo de sacarose nos colmos. Esses fatores podem justificar o bom desenvolvimento da cultura no Brasil.

Cerca de 5 milhões de hectares no Brasil são ocupados com cana-de-açúcar, com uma produção nacional na safra 2008/2009 de 569.062.629 toneladas. Desta quantidade, 504.962.891 toneladas foram produzidas pela região Centro-Sul e 64.099.73 toneladas pela região Norte-Nordeste (ÚNICA, 2009). Toda essa produção foi processada em cerca 306 Usinas, sendo aproximadamente 236 delas na região Centro-Sul (CARVALHO, 2008).

Com múltipla utilização, a cana pode ser empregada in natura, sob a forma de forragem, para alimentação animal, ou como matéria prima para a fabricação de rapadura, melado, aguardente, açúcar e álcool.

O Brasil destina cerca de 55% de sua produção de cana-de-açúcar para o álcool combustível e 45% para a produção de açúcar (CARVALHO, 2008).

A cana é uma cultura relativamente rústica. Seus tratos culturais são limitados ao controle das plantas daninhas e adubação em cobertura. A cultura também requer certo acompanhamento fitossanitário, pois é freqüentemente atacada por fitopatógenos, dentre esses destacam-se os nematóides.

2.2. Cana-de-Açúcar versus Nematóides

O primeiro relato de nematóides parasitando cana-de-açúcar foi feito por BRIEGER (1962) no Estado de São Paulo, quando espécies de *Helicotylenchus* Steiner e *Trichodorus* Cobb foram assinaladas na cultura. O primeiro levantamento de fitonematóides, feito através de convênio ESALQ-Coopersucar, foi realizado de outubro de 1970 a abril de 1973, no Estado de São Paulo, observando a ocorrência de *Helicotylenchus* spp. em mais de 90% das 800 amostras coletadas (NOVARETTI et al., 1974).

Conforme DINARDO-MIRANDA (2008), para variedades suscetíveis de cana-de-açúcar, as espécies *M. javanica* e *P. zaeae* causam cerca de 20 a 30% de redução de produtividade, no primeiro corte. Em sua opinião *M. incognita* pode ocasionar perdas maiores, ao redor de 40%. Em casos de variedades muito suscetíveis e níveis populacionais muito altos, as perdas provocadas por nematóides podem chegar a 50% da produtividade, somente na cana planta. BARBOSA (2008), entretanto, concluiu que *M. javanica* é mais agressiva para a cana que *M. incognita*. Quando a cana é cultivada como monocultura contínua, a renovação das lavouras, quase sempre, ocorre sem pousio entre a remoção das soqueiras velhas e o replantio. Essas condições favorecem o desenvolvimento das populações dos fitonematóides (SPAULL & CADET, 1990).

No campo, como os nematóides, usualmente, não estão uniformemente distribuídos na área toda, observam-se reboleiras de plantas subdesenvolvidas, freqüentemente exibindo clorose. Os sintomas na parte área assemelham-se à deficiência de minerais, murchas nas horas mais quentes do dia e, por fim, menores produtividades. Esses sintomas são reflexos do ataque dos nematóides às raízes, de onde esses parasitos extraem nutrientes e injetam toxinas, além de se associarem a outros micro-organismos da rizosfera que contribuem para o depauperamento das raízes (ABAWI & CHEN, 1998).

O diagnóstico seguro, no entanto, requer a análise de amostras de solo da rizosfera e de raízes, em laboratório, para a detecção dos nematóides presentes. Se a população dos nematóides-chave da cultura for considerada expressiva, em geral, atribui-se a esses os danos observados na cultura (DINARDO-MIRANDA, 2008).

2.2.1. Hábito de parasitismo dos nematóides chaves da cultura da cana-de-açúcar

O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. inicia-se no ovo. Dentro deste é formado o juvenil de 1º estágio. Em seguida este sofre uma ecdise e transforma-se no juvenil de 2º estágio que eclode do ovo e penetra na raiz da planta hospedeira. Nos tecidos das raízes, esses juvenis de segundo estágio se tornam sedentários. Ao se alimentarem, injetam materiais enzimáticos e toxinas nas raízes. Em conseqüência, formam seus

sítios de alimentação, constituídos por duas a 12 células gigantes em volta da região labial. No córtex da raiz, em volta do ponto de penetração, ocorre hipertrofia (aumento em tamanho) e hiperplasia (aumento em número das células corticais) originando engrossamento localizado da raiz, referido como galha. O tamanho das galhas depende do número de fêmeas em seu interior. Galhas maiores, em geral têm varias fêmeas em seu interior (LORDELLO, 1992).

Os juvenis, continuando seu desenvolvimento, sofrem mais três ecdises até tornarem-se adultos. Os machos continuam vermiformes e não se alimentam. Em geral, abandonam as raízes e permanecem no solo, até o completo esgotamento de suas reservas de energia. As fêmeas são piriformes e endoparasitas sedentárias. Continuando o seu desenvolvimento entram em oviposição formando uma massa de ovos, usualmente externa às raízes, contendo até 2000 ovos, sendo que, em média, contêm 600 ovos por massa (LORDELLO, 1992).

A duração do ciclo de vida desses nematóides pode variar, principalmente com a temperatura e com a planta hospedeira. Geralmente, em um hospedeiro favorável, completam o ciclo em torno de 30 a 35 dias, a uma temperatura em torno de 25 °C. A fase adulta é marcada por um acentuado dimorfismo sexual, sendo os machos vermiformes e migradores e as fêmeas piriformes e sedentárias (EISENBACK & TRIANTAPHYLLOU, 1991).

Pratylenchus zae é um nematóide endoparasito migrador. Penetra e necrosa a região do córtex da raiz, preferencialmente as radículas. Migra inter e intracelularmente nos tecidos corticais causando galerias e necroses. Microrganismos oportunistas da rizosfera invadem esses tecidos por essas aberturas e aceleram o processo de depauperamento das raízes. Em níveis de população mais altos a absorção e transporte de água e nutrientes são seriamente comprometidas, sendo que muitas raízes morrem. Nesses casos a parte aérea das plantas exhibe sintomas de carência de nutrientes e as plantas se tornam muito mais sensíveis aos veranicos. As lesões escurecidas nas raízes e esses sintomas na parte aérea auxiliam na identificação do problema (ABAWI & CHEN, 1998).

2.2.2. Manejo de nematóides em cana-de-açúcar

Dentre as práticas adotadas para diminuir a densidade populacional dos nematóides no solo, em área de cultivo de cana-de-açúcar, destacam-se: o uso de variedades resistentes, rotação de culturas, controle químico e, por fim, o controle biológico que vem assumindo uma importância cada vez maior em termos de pesquisas e publicações, conforme ilustrado na Figura 1.

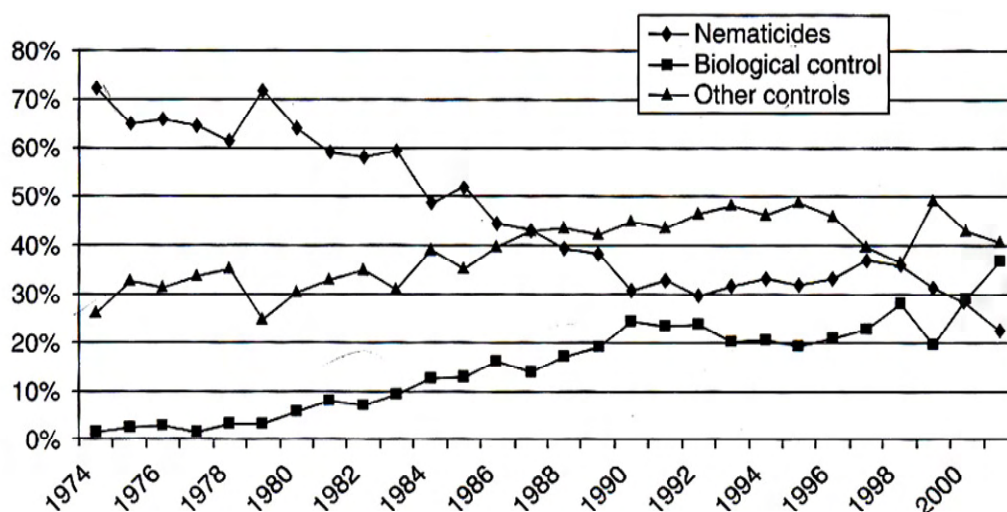


Figura 1. Comparação do número de publicações, em porcentagem, sobre nematicidas, métodos gerais de controle e controle biológico de nematóides de 1974 a 2001.

Fonte: Luc, et al. (2005).

O uso de variedades resistentes é o método mais atraente ao produtor, pois não implica em custos adicionais e não causa impactos ambientais. Entretanto, entre as variedades comerciais, não há variedades resistentes aos principais nematóides parasitos da cana-de-açúcar (ROSSETO & SANTIAGO, 2009). Para rotação de culturas, DINARDO-MIRANDA (2008) sugere a utilização de crotalárias em áreas de reforma.

O controle químico, com nematicidas sintéticos é o método mais utilizado e pode ser aplicado no plantio e na soqueira. Para a cana-de-açúcar os nematicidas mais utilizados são do grupo dos Aldicarbe, Carbofurano e Terbufós. No plantio, esses

produtos podem ser aplicados nos sulcos sobre os toletes e, nas soqueiras, ao lado ou sobre a linha da cana-de-açúcar. A aplicação de nematicidas durante o plantio mostra-se mais eficiente e pode aumentar a produtividade em cerca de 50 toneladas por hectare (ROSSETO & SANTIAGO, 2009).

Na área de controle biológico, diferentes organismos são considerados inimigos naturais dos fitonematóides, tais como os fungos, bactérias, nematóides predadores, ácaros e outros (TIHOHOD, 1993). Segundo SOARES (2006) o controle biológico de nematóides apresenta uma série de vantagens como: não causa dano ao meio ambiente, não favorece o surgimento de formas resistentes dos nematóides. O controle biológico de nematóides tem sido enfatizado para o manejo dessas pragas em pequenas áreas. Entretanto, há potencial para sua aplicação nas reboleiras, em áreas maiores. Estudos realizados pelo laboratório de Nematologia da FCAV/UNESP vêm demonstrando que um coquetel de fungos nematófagos misturados ou não com condicionadores de solo, em diversas culturas a campo, pode ser uma alternativa viável que se tornará um produto comercial em pouco tempo.

2.2.3. Rizobactérias no controle de nematóides em cana-de-açúcar.

Dentre os micro-organismos presentes na biota do solo estão as rizobactérias. Estas são bactérias de solo que colonizam as raízes, podem ser epifíticas ou endofíticas, não patogênicas, que atuam diretamente promovendo o crescimento ou, indiretamente, como agentes de controle biológico de doenças de plantas. Dessas, as que apresentam maior potencialidade e praticabilidade de uso na agricultura são espécies de: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Acetobacter* e *Herbaspirillum*, *Agrobacterium*, e *Enterobacter* entre outras (MARIANO et al., 2004).

As rizobactérias podem promover o crescimento e a bioproteção de plantas. A promoção do crescimento das plantas pode ser direta (CONN et al., 1997), ou indireta por meio do controle de micro-organismos patogênicos (LUZ, 1996). Quando a planta está sendo infectada por um patógeno, as rizobactérias podem atuar como agentes de

controle biológico através da produção de ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos (LAZAROVITS & NOWAK, 1997).

Este controle pode ser feito por diferentes mecanismos como competição, antibiose, produção de sideróforos e produção de diferentes compostos químicos como ácido salicílico, lipopolissacarídeos, quitinases, glucanases e fatores reguladores de sideróforos, os quais induzem uma resistência sistêmica a fitopatógenos em plantas (SIDDIQUI & SHAUKAT, 2004).

Outras maneiras de explicar a ação antagonista das rizobactérias já foram estudadas. A teoria mais viável parece ser a presença de sideróforos, substâncias quelantes do íon férrico (Fe^{+3}), produzidas pelos microrganismos em condições de deficiência desse elemento (LEONG, 1986). Nesse caso, os microrganismos produtores de sideróforos teriam vantagens sobre os outros, uma vez que o pouco ferro no ambiente estaria disponível apenas para eles próprios, porque são produtores de sideróforos. Esse é um dos motivos pelos quais bactérias do grupo fluorescente do gênero *Pseudomonas* são tão pesquisadas como promotoras do crescimento. O que confere a fluorescência a essas bactérias é justamente um sideróforo, denominado genericamente pioverdina, produzido em condições de deficiência de ferro (MEYER & ABDALLAH, 1978).

Vários estudos têm demonstrado a eficiência de tais organismos na promoção de crescimento de plantas e no controle de fitopatógenos (WESTCOTT & KLUEPFEL, 1993).

FREITAS (2008) sugere que a ação dessas rizobactérias sobre os nematóides ocorre em várias etapas do ciclo biológico desses organismos. Os antibióticos e toxinas produzidas pelas rizobactérias difundem-se pelo solo e podem ser absorvidos pelo ovo do nematóide, matando as células e impedindo seu desenvolvimento embrionário. Para explicar a inibição da eclosão o autor supõe que as rizobactérias degradam os exsudatos radiculares que funcionam como fator estimulante da eclosão para muitas espécies de nematóides. Os nematóides movimentam-se no solo aleatoriamente até que encontrem baixas concentrações de exsudados liberados pelo seu hospedeiro. Então, movimenta-se por estímulos quimiotróficos direcionando a locomoção para região de maior concentração deste exsudado, que coincide com a localização da raiz.

Como as rizobactérias transformam os exsudados radiculares em subprodutos, isto pode fazer com que o nematóide não reconheça o estímulo e não encontre a raiz do seu hospedeiro. Caso os nematóides reconheçam os estímulos e se direcionem para as raízes, alguns produtos bacterianos podem apresentar características nematostáticas, reduzindo sua motilidade e impedindo sua penetração na raiz.

Ainda segundo o mesmo autor, o reconhecimento do hospedeiro pelo nematóide ocorre pela interação entre as lecitinas na superfície da raiz e os carboidratos presentes na cutícula do nematóide. Desta forma as rizobactérias interferem nesse reconhecimento, pois substâncias produzidas por elas são absorvidas pelas raízes modificando sua composição química e os nematóides não conseguem reconhecer seu hospedeiro, logo, não se alimentam normalmente, visto que as rizobactérias causam uma hipersensibilidade nas células gigantes, sítio de alimentação dos nematóides endoparasitos sedentários e, sem alimento suficiente, os nematóides não encontram energias que atendam suas demandas para sua reprodução.

Resultados positivos foram observados por AALTEN et al. (1998) para inibição da penetração de *Radopholus similis* (Coob) Thorner em raízes de bananeira e *Meloidogyne* spp., em raízes de, milho e tomateiro, em casa de vegetação, com a utilização de diferentes isolados de *Pseudomonas fluorescens*. Verificaram, também, efeito de repelência em relação aos nematóides.

As bactérias associadas à rizosfera podem representar 10% da população de microrganismos nesta região, principalmente espécies de *Pseudomonas* do grupo fluorescente e poucas do grupo não fluorescente, como *P. cepacia*, além de *Bacillus* spp. e *Streptomyces* spp. (ROBBS, 1991).

Considerando a grande diversidade de vida no solo e suas estreitas associações entre os diferentes grupos de micro-organismos, podendo ter interações sinérgicas e de predação ou parasitismo, não se deve ignorar o enorme potencial do controle biológico das rizobactérias promotoras do crescimento de plantas no controle de fitonematóides como opção eficaz para o manejo dessas pragas. Especialmente, se for considerada a possibilidade de incorporação dessas bactérias às formulações de fungos nematófagos cuja eficácia no controle de nematóides já está estabelecida.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram:

1) estudar a dinâmica da população de *P. zae* em um canavial, no decorrer de um período de nove meses;

2) avaliar in vitro a ação de 20 isolados de rizobactérias sobre a eclosão e motilidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita* e de *M. javanica* e sobre a motilidade de formas ativas de *P. zae*;

3) avaliar, a campo, a influência do plantio na linha e na entrelinha com nematicidas sintéticos e com um isolado bacteriano sobre a população de *P. zae*.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Estudo da Dinâmica de População de *P. zae* em Cana-de- Açúcar

Uma cultura de cana-de-açúcar sabidamente infestada por *P. zae* foi demarcada para condução do estudo. O principal critério para escolha da área foi a presença desse nematóide como espécie dominante na área. O experimento foi instalado em área de cana da variedade SP87-365 da Usina São Carlos, em um Latossolo Vermelho Amarelo (LVA-10) no município de Itápolis, SP, cuja população inicial no solo foi de 800 espécimes em 100 cm³ de solo e 1600 espécimes em 10 gramas de raízes. Espécimes do nematóide foram coletados e montagens temporárias foram preparadas (SOUTHEY, 1970) para ilustração dos caracteres morfológicos marcantes que identificam a espécie, utilizou-se um sistema de aquisição de imagens constituído de uma câmera digital Olympus DP72, montada sobre um microscópio de mesma marca, modelo BX50 e identificada com base nos caracteres morfológicos de fêmeas adultas, segundo GONZAGA (2006). O plantio da cana foi realizado no mês de fevereiro de 2009. Os sulcos foram feitos com espaçamento de 1,40 m e profundidade entre 20 a 25 cm sendo que a largura foi proporcionada pela abertura das asas do sulcador num ângulo de 45°.

Os colmos com idade de 10 a 12 meses foram distribuídos nos sulcos, sempre cruzando a ponta do colmo anterior com o pé do seguinte e picado, com podão, em toletes de aproximadamente de três gemas, de modo a proporcionar uma densidade de plantio em torno de 12 gemas por metro linear de sulco. Posteriormente, todas as demais práticas culturais exigidas pela cultura, foram realizadas pela Usina, exceto a aplicação de nematicida.

O experimento foi conduzido no delineamento experimental de blocos casualizados com seis parcelas e quatro repetições. As parcelas continham cinco linhas totais com 10 m de comprimento, sendo as três centrais consideradas como área útil.

As amostragens foram realizadas mensalmente, até os 270 dias, compreendendo os meses de março a novembro. Cada amostra de solo e raízes era formada por três sub-amostras, coletadas na área útil de cada parcela. As amostras eram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e levados até o laboratório de Nematologia da FCAV/UNESP onde eram armazenados em câmara fria a 5 °C até o momento da extração dos nematóides.

Os nematóides foram extraídos de alíquotas de 100 cm³ das amostras de solo pela técnica de JENKINS (1964) e de alíquotas de 10 g de raízes pelo método de COOLEN & D'HERDE (1972). As suspensões aquosas dos nematóides obtidas de cada amostra foram armazenadas em geladeira a 5°C, até o momento da contagem. A estimativa da população de *P. zae* presente nas amostras de solo e de raízes foi realizada com o auxílio da câmara de contagem de Peters ao microscópio fotônico.

As médias de cada amostragem para solo e para raízes foram determinadas e os dados foram plotados em curvas indicadoras da flutuação populacional do nematóide no período.

3.2. Efeito in vitro de 21 Isolados de Rizobactérias sobre a Eclosão e motilidade de juvenis de Segundo Estádio de *Meloidogyne incognita* e de *M. javanica* e sobre a Motilidade de *Pratylenchus zae*

3.2.1. Obtenção das subpopulações dos nematóides

As subpopulações de *Meloidogyne incognita* e de *M. javanica* foram recuperadas de raízes infectadas de algodoeiro, da região de Barreiras-BA e de quiabeiro da região de Piacatu-SP, respectivamente. As espécies de *Meloidogyne incognita* e de *M.*

javanica foram previamente identificadas com base nos caracteres morfológicos do padrão perineal, preparado conforme TAYLOR & NETSCHER (1974) e na morfologia da região labial dos machos, conforme EISENBACK *et al.* (1981). Espécimes do nematóide foram coletados e montagens temporárias foram preparadas (SOUTHEY, 1970) para ilustração dos caracteres morfológicos marcantes que identificam as espécies, utilizou-se um sistema de aquisição de imagens constituído de uma câmera digital Olympus DP72, montada sobre um microscópio de mesma marca, modelo BX50.

Essas subpopulações foram mantidas em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicon* L.) cv. Santa Cruz Kada, em vasos de cerâmica com capacidade para seis litros, contendo uma mistura de terra e areia na proporção 1:2, previamente autoclavada, em casa de vegetação.

A partir das raízes de tomateiro exibindo galhas, cerca de 60 dias após a inoculação, foi preparada uma suspensão contendo ovos e juvenis de segundo estágio (J2) para cada uma das espécies dos nematóides de galha (HUSSEY & BARKER, 1973). A concentração de ovos e de juvenis de segundo estágio nessas suspensões foi estimada com auxílio de uma câmara de contagem de Peters, e um microscópio fotônico (SOUTHEY, 1970), e ajustada para 4.000 ovos e J2/mL. O restante das suspensões foi incubado em câmaras de eclosão (CLIFF & HIRSCHMANN, 1985), por aproximadamente cinco dias para obtenção de suspensões de J2.

As suspensões de J2 de *M. incognita* e de *M. javanica* obtidas foram colocadas em funis de Baermann (SOUTHEY, 1970) para obtenção de suspensões ativas de J2 de ambas espécies, cuja concentração foi ajustada para 1500 juvenis/mL.

A subpopulação de *P. zae* foi recuperada de raízes de plantas de cana-de-açúcar da região de Pontalinda-SP, identificada com base nos caracteres morfológicos de fêmeas adultas, segundo GONZAGA (2006).

A partir de raízes de plantas de cana-de-açúcar coletadas a campo foi obtida a suspensão de *P. zae* pela técnica de COOLEN & D'HERDE (1972). A concentração da suspensão de formas ativas foi estimada e ajustada para 300 formas ativas/mL, conforme anteriormente descrito.

3.2.2. Preparo das suspensões bacterianas

Dez dos 20 isolados das bactérias avaliados foram provenientes da coleção de rizobactérias do Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal e os outros 10 isolados foram provenientes do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). As rizobactérias foram multiplicadas em placas de Petri de plástico de 90 mm de diâmetro, esterilizadas com raios gama, contendo meio de cultura TSA “Tryptic Soy Agar” e incubadas por 20 horas a 28°C em câmara de crescimento do tipo B.O.D. Em seguida, as placas foram levadas à câmara de fluxo laminar, onde foi feita a ressuspensão das culturas bacterianas em água esterilizada, com o auxílio de uma alça de Drigalsky, em condições assépticas. Cada suspensão bacteriana foi adicionada separadamente a um Erlenmeyer de vidro contendo 160 mL de água autoclavada e com o auxílio de um espectrofotômetro foi preparada uma nova suspensão aquosa ajustada para densidade ótica $OD_{625} = 0,2$, para os isolados provenientes do Laboratório de Nematologia (Isolados FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10), e para os isolados bacterianos provenientes do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) (Isolados *Bacillus megasterium* pv *cerealis*, *Alcaligenes piechaudii*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Kluyvera ascorbata*, *Bacillus thuringiensis kurstakii*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *B. thuringiensis kenyae* e a suspensão aquosa foi ajustada para uma densidade ótica $OD_{625} = 0,7$.

3.2.3. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita* e de *M. javanica*

Foram utilizados 21 isolados de rizobactérias. A densidade ótica das suspensões aquosas de cada um deles foi determinada como descrito no item anterior. A seguir, 20 mL da suspensão de cada isolado das bactérias foram adicionados, separadamente, a cada uma das câmaras de eclosão mencionadas anteriormente para avaliação da influência dos isolados bacterianos sobre a eclosão dos juvenis de *M. incognita* e de *M. javanica*. A eclosão desses nematóides em água foi utilizada como controle.

A seguir, 1 mL da suspensão contendo 4.000 ovos dos nematóides foi adicionado, individualmente, a cada uma das câmaras de eclosão. As câmaras contendo as suspensões de rizobactérias e água, ovos de *M. incognita* e de *M. javanica* foram mantidas por 9 dias no escuro, em B.O.D. a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, para os isolados FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10, e para os isolados *B.megasterium* pv *cerealis*, *A. piechaudii*, *B. amyloliquefaciens*, *K. ascorbata*, *B. thuringiensis kurstakii*, *E. cloacae*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis kenya*e esse tempo de incubação na B.O.D. foi de 6 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e quatro repetições, sendo cada uma delas constituída por uma câmara de eclosão.

A intervalos regulares de 72 horas, as suspensões de J2 das câmaras de eclosão foram recuperadas em béqueres e igual volume de suspensão bacteriana ou água, no caso da testemunha foi repostado. Em seguida, estimou-se a população de J2 em cada suspensão ao microscópio fotônico, com auxílio da câmara de contagem de Peters (SOUTHEY, 1970). Determinaram-se os percentuais de eclosão de J2 e, para efeito de comparação entre os tratamentos, o tratamento Testemunha (água) foi considerado como 100% e os demais tratamentos foram tomados como percentagem da Testemunha. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

3.2.4. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a motilidade de juvenis de *Meloidogyne incognita*, de *M. javanica* e de *Pratylenchus zaeae*

Os mesmos isolados bacterianos foram empregados para o estudo da ação de rizobactérias sobre a motilidade dos nematóides. A densidade ótica das suspensões aquosas de cada um deles foi determinada e ajustada, como descrito anteriormente. A seguir, 20 mL da suspensão de cada isolado foram adicionados, separadamente, a cada uma das câmaras de eclosão (CLIFF & HIRSCHMANN, 1985), para avaliação do efeito das bactérias sobre a motilidade dos nematóides. A motilidade de juvenis e de formas ativas de *P. zaeae* em água foi utilizada como controle.

Às câmaras contendo as suspensões de rizobactérias e água foi adicionado, separadamente, 1 mL de suspensão de J2 de *M. incognita* e de *M. javanica*, contendo 1.500 espécimes/mL e 1 mL de suspensão de *P. zaeae*, contendo 300 espécimes/mL, obtidos como anteriormente descrito. A seguir os isolados FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10 foram mantidos no escuro em B.O.D. a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, por 9 dias. Para os demais isolados foi seguida a mesma metodologia, variando apenas o tempo de imersão, que foi de 6 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e quatro repetições, sendo cada uma delas constituída por uma câmara de eclosão.

A intervalos regulares de 72 horas, as suspensões de J2 dos nematóides de galha e de formas ativas de *P. zaeae* das câmaras de eclosão foram recuperadas em béqueres e igual volume de suspensão bacteriana ou de água foi repostado em cada câmara, conforme o caso. Em seguida, estimou-se a população de J2 e de *P. zaeae* ativos e inativos em cada suspensão. Para tanto, 1 mL de solução 1N de NaOH foi adicionado a 10 mL da suspensão de formas ativas dos nematóides e, imediatamente foi estimado ao microscópio fotônico a população de formas ativos e inativos, conforme CHEN & DICKSON (2000), utilizando-se câmara de contagem de Peters.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

4. Manejo de *Pratylenchus zae* em Cana-de-açúcar

A área para instalação do experimento foi escolhida de acordo com o histórico da cultura. Uma amostragem prévia foi realizada para confirmar a presença de *P. zae* e para determinação da população inicial, conforme descrito no item 3.1. O experimento foi instalado em uma área da Usina São Carlos no município de Itápolis, SP. O plantio da cana foi realizado no mês de fevereiro de 2009. A época de plantio, o sistema de plantio, o tamanho das parcelas e os tratamentos culturais foram os mesmos descritos no item 3.1.

O delineamento experimental usado foi o de blocos casualizados com seis tratamentos e quatro repetições. As parcelas foram separadas por uma bordadura de dois metros. Entre os blocos essa bordadura foi de cinco metros.

Foram usados os seguintes tratamentos: 1. Testemunha na linha de plantio; 2. Testemunha na entrelinha; 3. Aldicarbe 150 G (10 Kg/ha) na linha de plantio; 4. Aldicarbe 150 G (10 Kg/ha) na entrelinha; 5. Isolado FCAV 9 + adubo organomineral (100 mL/1kg para cada 10 metros linear) na linha de plantio e 6. Isolado FCAV 9 + adubo organomineral (100 mL/1kg para cada 10 metros linear) na entrelinha. Todos os tratamentos foram aplicados no momento do plantio, manualmente.

As avaliações consistiram na amostragem de solo e raízes, realizada mensalmente, até os 210 dias após o plantio. Após esse período foi realizada mais uma amostragem aos 270 dias. Cada amostra era constituída por três sub-amostras coletadas no sentido diagonal da área considerada útil. Em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e levadas ao laboratório de Nematologia da FCAV/UNESP, onde foram armazenadas em câmara fria a 5 °C, onde permaneceram até o momento da extração dos nematóides. A extração e contagem foram realizadas conforme descrito no item 3.1.

Aos 210 dias também foram realizadas análises biométricas por meio de duas variáveis: altura e número de perfilhos. Para a avaliação de altura foram medidos 30 colmos, em diagonal, sendo 10 em cada linha, nas áreas úteis das parcelas. A altura foi medida do solo até o início da folha bandeira. A segunda variável avaliada foi o número de perfilho contado em todas as plantas da área útil de cada parcela.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo da dinâmica populacional de *Pratylenchus zae* em Cana-de-açúcar

A Figura 2 ilustra os principais caracteres morfológicos que identificam a população de *P. zae* coletada na área do experimento.

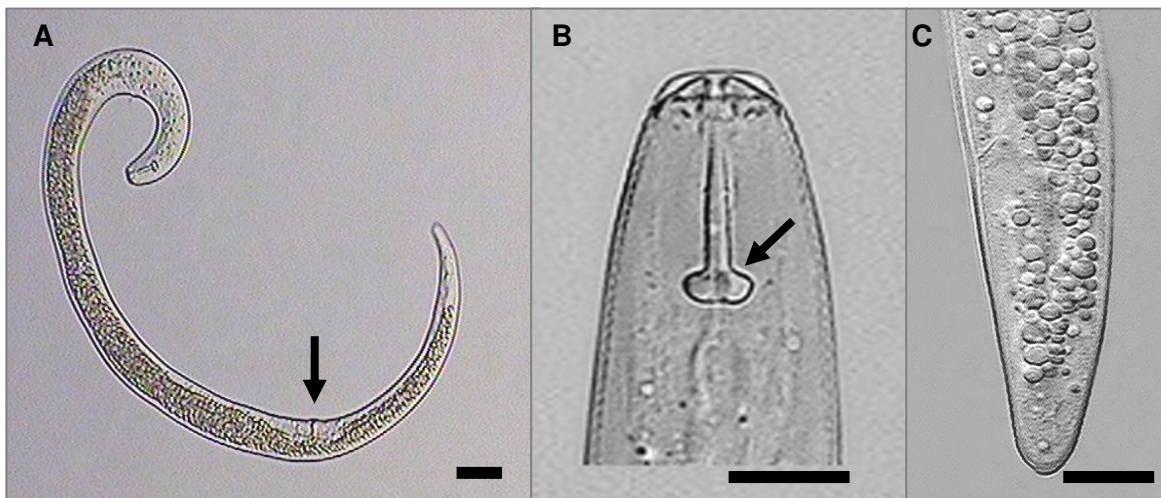


Figura 2. Fotomicrografia dos principais caracteres morfológicos para identificação de *Pratylenchus zae*. A) Fêmea inteira. A seta indica a posição mais anterior da vulva nessa espécie que nas demais comumente encontradas no Brasil (barra da escala = 20 μm). B) Extremidade anterior da fêmea com três anéis na região labial e nódulos basais do estilete achatados na parte superior, conforme indicado pela seta (barra da escala = 10 μm). C) Cauda conóide (barra da escala = 10 μm).

No mês de março, aos 30 dias após o plantio, a densidade de população de *P. zae* no solo era de 218 indivíduos em 100 cm^3 das amostras (Figura 3). Essa densidade decresceu nos meses de abril a outubro, flutuando entre 18 a 36 indivíduos por 100 cm^3 das amostras de solo. Estima-se que a menor densidade de raízes também tenha influenciado a dinâmica da população do nematóide nesse período. A partir do mês de outubro, observou-se a tendência de aumento da população do nematóide no

solo. Nas raízes, a tendência para o aumento da densidade da população do nematóide foi observada a partir do mês de julho (Figura 3). OLIVEIRA et al. (2008) estudando *Pratylenchus* spp. em cana-de-açúcar observaram que o déficit hídrico no solo provocou a redução do crescimento e a morte de raízes na cultura, tendendo a diminuir a densidade da população de nematóides.

Em cana-de-açúcar, após o início do período das chuvas, a expressiva produção de raízes novas dá suporte a aumentos mais expressivos da população do nematóide no sistema radicular (Figura 3), com tendência de aumento da densidade de população do nematóide também no solo. Por tratar-se de um endoparasito migrador, havendo maior densidade de raízes ativas no solo, a maior densidade de população do nematóide estará, invariavelmente, nas raízes (Figura 3).

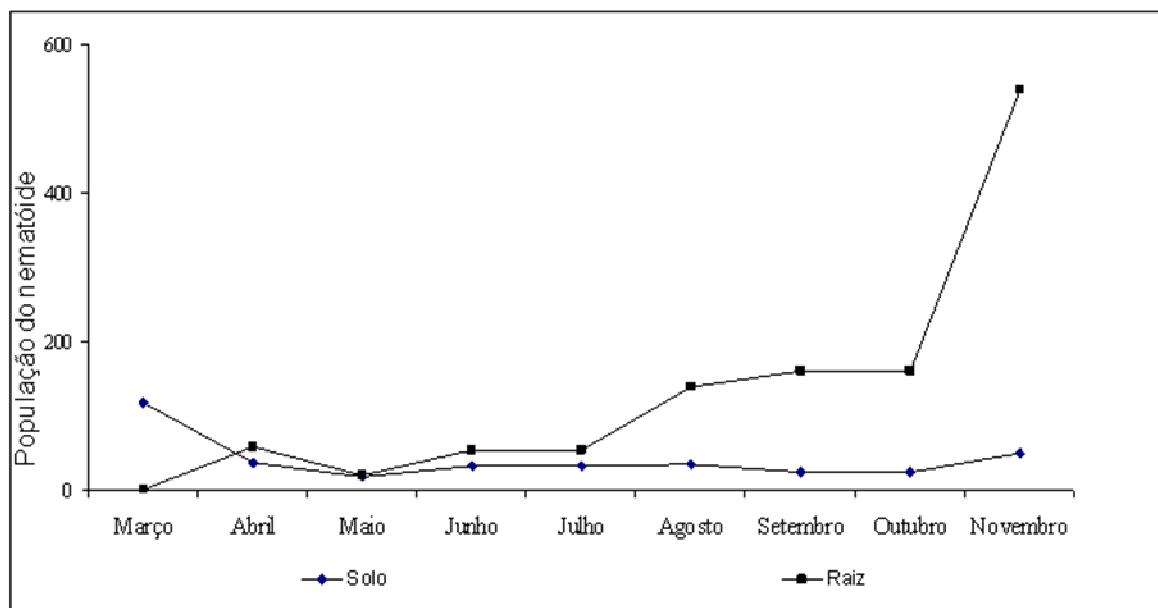


Figura 3. Dinâmica populacional de *Pratylenchus zae* na rizosfera e nas raízes de cana-de-açúcar, variedade SP87-365. Itápolis-SP. 2009.

4.2. Efeito in vitro de 21 Isolados de Rizobactérias sobre a Eclosão e Motilidade de Juvenis de Segundo Estádio de *Meloidogyne incognita* e de *M. javanica* e sobre a Motilidade de *Pratylenchus zeae*

4.2.1. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne incognita* e de *M. javanica*

As Figuras 4 e 5 ilustram os principais caracteres morfológicos que identificam as subpopulações das espécies de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* respectivamente, utilizadas para a execução do experimento.

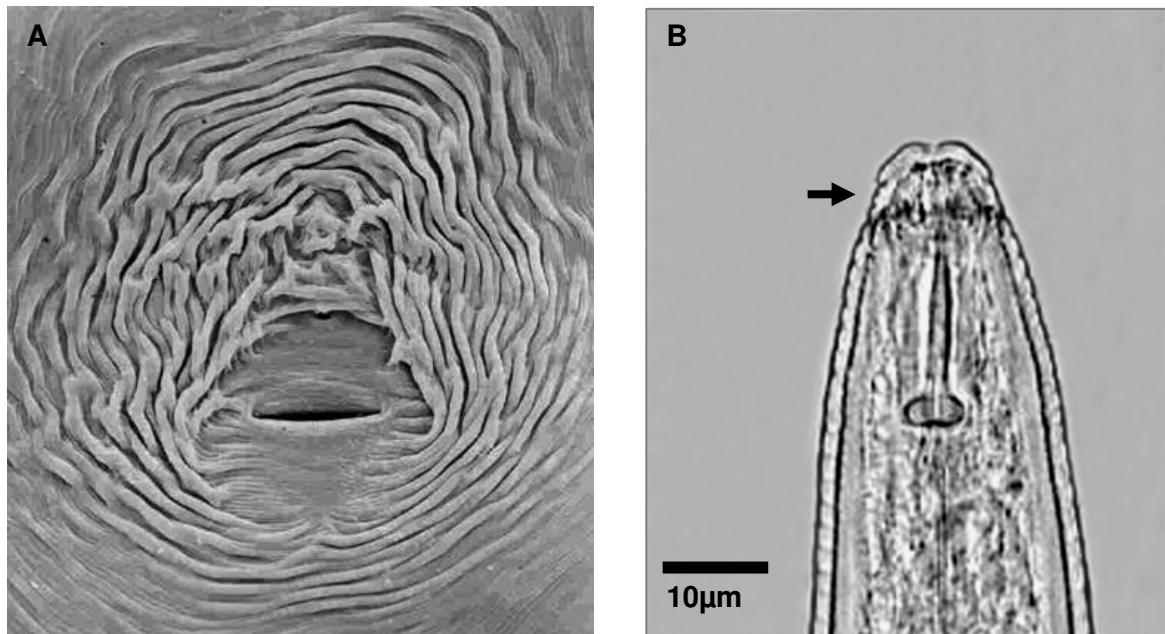


Figura 4. Principais caracteres morfológicos para identificação de *Meloidogyne incognita*. A) Eletromicrografia de varredura do padrão perineal. B) Fotomicrografia da região anterior do macho (a seta indica a presença de anelações incompletas na região labial).

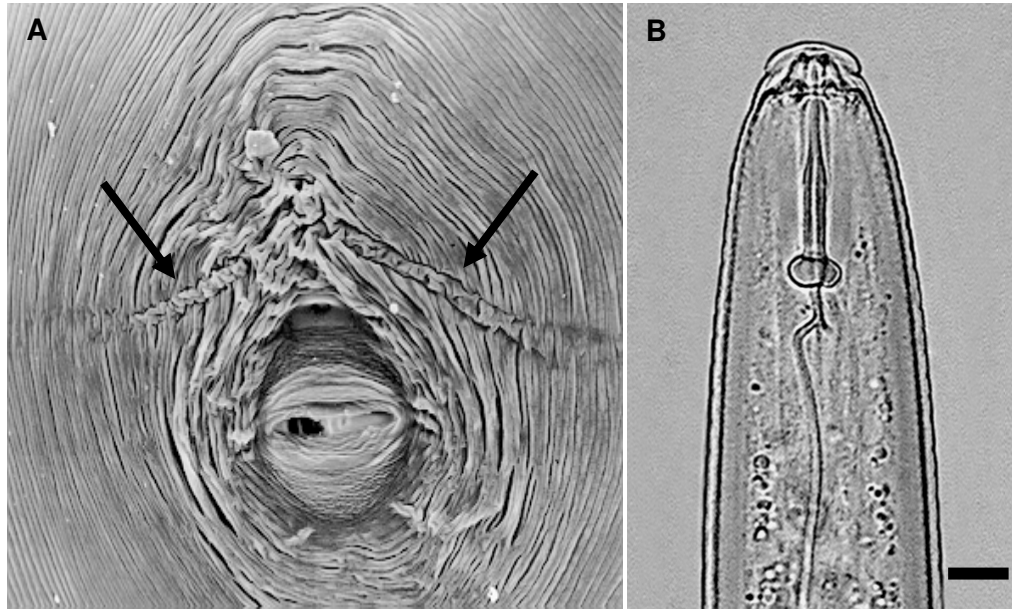


Figura 5. Principais caracteres morfológicos para identificação de *Meloidogyne javanica*. A) Eletromicrografia de varredura do padrão perineal (as setas indicam a presença dos campos laterais). B) Fotomicrografia da região anterior do macho (barra da escala = 10 µm).

Em relação a *M. incognita*, na primeira avaliação, ao terceiro dia de imersão dos ovos do nematóide nos diferentes isolados bacterianos (FCAV 1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10), não houve diferença estatística significativa entre as percentagens de eclosão dos juvenis nas suspensões dos diferentes isolados (tratamentos), conforme os dados da Tabela 1. Os dados referentes à eclosão de juvenis de *M. incognita*, no sexto dia de imersão dos ovos no isolado 6, mostra uma percentagem de eclosão nula (Tabela 1), tendo diferido da testemunha e dos isolados FCAV 2, FCAV 3, FCAV 5, FCAV 7, FCAV 8 e FCAV 10. Ao nono dia de imersão, a eclosão de J2 do nematóide nesse isolado, diferiu, apenas do isolado 1 e da testemunha. Os isolados bacterianos não exerceram influência marcante na média da percentagem de eclosão de juvenis de *M. incognita* (Tabela 1).

Tabela 1. Eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias, in vitro, por nove dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,2). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Eclosão		
	3º Dia	6º Dia	9º Dia
Isolado FCAV 1	79,56	9,37 d	116,66 a
Isolado FCAV 2	68,85	231,25 ab	54,58 ab
Isolado FCAV 3	106,37	125,00 bc	2,50 c
Isolado FCAV 4	66,76	59,37 bcd	15,00 bc
Isolado FCAV 5	73,08	331,25 ab	14,58 bc
Isolado FCAV 6	117,53	0,00 d	15,00 bc
Isolado FCAV 7	34,00	228,12 ab	12,50 bc
Isolado FCAV 8	78,61	338,17 a	4,58 bc
Isolado FCAV 9	86,52	37,50 cd	50,00 abc
Isolado FCAV 10	38,81	231,35 ab	15,83 bc
Testemunha (água)	100,00	100,00 abc	100,00 a
Teste F (Tratamento)	0,77 ^{ns}	5,03**	4,80**
C. V (%)	39,42	51,02	44,42

Dados transformados em $(\log x + 0,5)$.

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

**Significativo a 1% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

No caso de *M. javanica* a imersão dos ovos do nematóide nos diferentes isolados bacterianos (FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10), propiciou diferença estatística significativa entre as percentagens de eclosão dos juvenis nos diferentes tratamentos, indicando que os isolados bacterianos influenciaram a percentagem de eclosão de *Meloidogyne javanica*. Com efeito, observou-se maior ação ovicida dos isolados FCAV 2 e FCAV 8, no terceiro e sexto dias de imersão dos ovos às suspensões bacterianas.

As menores percentagens de eclosão foram obtidas com os isolado FCAV 6 e FCAV 8, no terceiro e sexto dias de imersão dos ovos aos diferentes isolados. Na segunda avaliação estes não diferiram do isolado FCAV 10, que também propiciou baixa percentagem de eclosão. Na terceira avaliação, ao nono dia, houve diferença entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias in vitro, por nove dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,2). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Eclosão		
	3º Dia	6º Dia	9º Dia
Isolado FCAV 1	49,94 cd	153,96 a	78,04 ab
Isolado FCAV 2	0,24 e	74,60 a	19,72 bcd
Isolado FCAV 3	108,68 b	146,82 a	48,33 abcd
Isolado FCAV 4	58,02 cd	106,32 a	32,77 abcd
Isolado FCAV 5	55,58 cd	100,79 a	46,66 abcd
Isolado FCAV 6	18,63 de	22,22 b	40,27 abcd
Isolado FCAV 7	42,84 cd	146,82a	49,44 abc
Isolado FCAV 8	1,39 e	11,11 b	10,00 cd
Isolado FCAV 9	190,90 a	162,30 a	115,00 a
Isolado FCAV 10	34,87 cd	15,87 b	0,00 d
Testemunha (água)	100,00 bc	100,00 a	100,00 a
Teste F (Tratamento)	9,39**	7,74**	2,83*
C. V (%)	50,96	30,13	43,42

Dados transformados em $(\log x + 0,5)$.

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

**Significativo a 1% de probabilidade.

*Significativo a 5% de probabilidade.

Na imersão dos ovos de *Meloidogyne incognita* aos isolados bacterianos: *B. megasterium* pv *cerealis*, *A. piechaudii*, *B. amyloliquefaciens*, *K. ascorbata*, *B. thuringiensis kurstakii*, *E. cloacae*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis kenyae*, não houve diferença estatística significativa quanto a eclosão de juvenis entre os tratamentos e quando estes foram comparados a testemunha também não foi observada diferença, nem na primeira avaliação, aos 3 dias, e nem na segunda avaliação, aos 6 dias de imersão dos ovos nas suspensões aquosas dos diferentes isolados (Tabela 3).

Tabela 3. Eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne incognita* cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias, in vitro, por seis dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,7). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Eclosão	
	3º Dia	6º Dia
Isolado <i>Bacillus megasterium</i> pv <i>cerealis</i>	131,73	76,09
Isolado <i>Alcaligenes piechaudii</i>	125,06	61,39
Isolado <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	76,28	104,55
Isolado <i>Kluyvera ascorbata</i>	114,58	90,92
Isolado <i>Bacillus thuringiensis kurstakii</i>	25,70	60,89
Isolado <i>Enterobacter cloacae</i>	20,15	128,40
Isolado <i>Bacillus pumilus</i>	200,73	160,77
Isolado <i>Bacillus cereus</i>	99,52	62,74
Isolado <i>Bacillus subtilis</i>	69,25	138,23
Isolado <i>B. thuringiensis kenyae</i>	167,39	80,05
Testemunha (água)	100,00	100,00
Teste F (Tratamento)	2,12 ^{ns}	0,97 ^{ns}
C. V (%)	28,16	34,82

Dados transformados em (log x + 0,5).

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

A Tabela 4 contém os resultados da imersão de ovos de *M. javanica* em suspensões bacterianas de *Bacillus megasterium* pv *cerealis*, *Alcaligenes piechaudii*, *B. amyloliquefaciens*, *Kluyvera ascorbata*, *B. thuringiensis kurstakii*, *Enterobacter cloacae*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis kenya*e Na primeira avaliação, o isolado *B. amyloliquefaciens* propiciou a maior média de eclosão diferindo do isolado *Bacillus pumilus* e *B. thuringiensis kenya*e não diferindo dos demais inclusive a testemunha. O isolado *Bacillus pumilus* propiciou o menor taxa de eclosão de juvenis (média=0), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos inclusive da testemunha. Entretanto, na segunda avaliação, aos seis dias, embora não tenha havido diferença estatística entre os tratamentos, a taxa de eclosão de J2 nas suspensões desse isolado foi maior que nos demais (Tabela 4). Estudos realizados por STIRLING (1991) confirmam que algumas rizobactérias produzem metabólitos tóxicos que afetam o movimento dos nematóides in vitro, enquanto outras inibem a eclosão de juvenis e o processo de penetração nas raízes, como observado no presente trabalho.

Tabela 4. Eclosão de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* cujos ovos foram imersos em suspensões de diferentes isolados de rizobactérias, in vitro, por seis dias, como percentagem da eclosão em água. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,7). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

% de Eclosão		
Tratamento	3º Dia	6º Dia
Isolado <i>Bacillus megasterium</i> pv <i>cerealis</i>	233,33 ab	288,49
Isolado <i>Alcaligenes piechaudii</i>	183,33 ab	118,18
Isolado <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	312,50 a	476,36
Isolado <i>Kluyvera ascorbata</i>	187,50 ab	226,36
Isolado <i>Bacillus thuringiensis kurstakii</i>	133,33 ab	176,36
Isolado <i>Enterobacter cloacae</i>	156,25 ab	110,99
Isolado <i>Bacillus pumilus</i>	0,00 c	296,82
Isolado <i>Bacillus cereus</i>	229,16 a	467,65
Isolado <i>Bacillus subtilis</i>	191,66 ab	62,88
Isolado <i>B. thuringiensis kenyae</i>	60,41 b	110,00
Testemunha (água)	100,00 ab	100,00
Teste F (Tratamento)	3,91**	0,85 ^{ns}
C. V (%)	67,10	52,29

Dados transformados em $(\log x + 0,5)$.

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

**Significativo a 1% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Como no presente trabalho, OOSTENDORP & SIKORA (1990) também observaram uma completa inibição da eclosão de *Heterodera schachtii* Scham por filtrados de culturas bacterianas. Por outro lado, o contato direto da calda contendo *Bacillus subtilis* com juvenis de *H. glycines* Ichinohe, recém-eclodidos, não ocasionou redução significativa da população de nematóide após sete dias de incubação.

Contrariando estes resultados, KLOEPPER et al. (1992) encontraram espécies de rizobactérias que exibiam antagonismo a *H. glycines* e *M. incognita*, em soja.

ARAÚJO et al. (2002), testando uma calda contendo *B. subtilis*, conseguiram reduzir significativamente a eclosão de juvenis de *H. glycines* in vitro, em comparação com exsudados não tratados com a bactéria. Os mesmos autores concluíram que o mecanismo envolvido no estímulo à eclosão deve estar relacionado a metabólitos produzidos no desenvolvimento da bactéria, pois a utilização de células separadamente não proporcionou a mesma redução encontrada quando foi utilizado a calda com a bactéria.

4.2.2. Efeito de isolados de rizobactérias sobre a motilidade de juvenis de *Meloidogyne incognita*, de *M. javanica* e de *Pratylenchus zeae*

Na avaliação da influência dos isolados bacterianos (FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10), sobre atividades dos juvenis de segundo estágio de *M. incognita* (Tabela 5), não houve diferença estatística expressiva entre os isolados quanto à percentagem de juvenis ativos e inativos. De fato, houve diferença entre as percentagens de juvenis ativos apenas ao sexto dia de imersão dos juvenis nas suspensões dos diferentes isolados. Nessa avaliação, os isolados FCAV 1, FCAV 3 e FCAV 10 não diferiram entre si, contudo os isolados FCAV 1 e FCAV 3 diferiram da testemunha (Tabela 5). Entretanto, essas diferenças foram muito baixas. Todavia, quando se compara os resultados dos juvenis ativos e inativos (supostamente mortos), observa-se que a percentagem de juvenis ativos de *M. incognita* sempre foi muito superior a de inativos, indicando que os isolados testados tiveram pouco efeito sobre a motilidade dos juvenis desse nematóide.

Entretanto, HABE (1997) obteve redução de 53% no número de galhas formadas por *M. incognita*, em raízes de tomateiro, utilizando uma mistura de *Pseudomonas* spp. três *Pseudomonas* spp. não fluorescentes e um *Bacillus* spp., conforme menção de FREITAS (2008).

Tabela 5. Percentagem de juvenis de segundo estádio ativos e inativos de *Meloidogyne incognita* no período de nove dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,2). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Juvenis de segundo estádio											
	3º Dia				6º Dia				9º Dia			
	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos
Isolado FCAV 1	443,45 a	98,33	1,67	214,58	92,13 b	7,87	187,50	66,67	8,33	187,50	66,67	8,33
Isolado FCAV 2	273,21 ab	100,00	0,00	104,16	100,00 a	0,00	175,00	75,00	25,00	175,00	75,00	25,00
Isolado FCAV 3	187,55 b	97,92	2,08	217,56	91,66 b	8,33	62,50	70,83	29,17	62,50	70,83	29,17
Isolado FCAV 4	132,73 bc	95,83	4,17	141,37	100,00a	0,00	8,33	75,00	25,00	8,33	75,00	25,00
Isolado FCAV 5	111,38 bc	76,67	23,33	132,74	100,00 a	0,00	32,29	75,00	25,00	32,29	75,00	25,00
Isolado FCAV 6	297,02 ab	93,75	6,25	162,50	100,00 a	0,00	112,50	75,00	25,00	112,50	75,00	25,00
Isolado FCAV 7	166,06 b	100,00	0,00	146,43	100,00 a	0,00	171,88	50,00	50,00	171,88	50,00	50,00
Isolado FCAV 8	93,55 bc	100,00	0,00	107,14	100,00 a	0,00	104,17	50,00	50,00	104,17	50,00	50,00
Isolado FCAV 9	30,30 c	100,00	0,00	36,31	100,00 a	0,00	29,17	50,00	50,00	29,17	50,00	50,00
Isolado FCAV 10	270,23 ab	100,00	0,00	242,26	98,96 ab	1,04	392,71	97,22	2,78	392,71	97,22	2,78
Testemunha (água)	100,00 bc	96,43	3,57	100,00	100,00 a	0,00	100,00	100,00	0,00	100,00	100,00	0,00
Teste F (Tratamento)	3,94**	1,39 ^{ns}	1,39 ^{ns}	1,35 ^{ns}	2,34*	2,34 ^{ns}	0,98 ^{ns}	1,15 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,98 ^{ns}	1,15 ^{ns}	0,81 ^{ns}
CV%	32,83	10,62	44,24	48,53	4,34	35,71	53,37	27,20	64,02	53,37	27,20	64,02

Dados transformados em (log x + 0,5).

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

Em relação à motilidade dos juvenis de segundo estágio de *M. javanica* imersos aos diferentes isolados bacterianos testados (FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10), observou-se que na primeira avaliação houve diferença estatística entre os tratamentos apenas para os juvenis inativos. Na segunda avaliação houve diferença estatística tanto para os J2 ativos, quanto para os inativos. Na última avaliação, realizada aos 9 dias de imersão dos juvenis às suspensões bacterianas não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 6).

Os isolados bacterianos FCAV 2 e FCAV 6 mostraram-se estatisticamente diferentes da testemunha, na primeira avaliação, para juvenis inativos. Esses tratamentos não diferiram entre si, bem como, não diferiram dos isolados FCAV 4, FCAV 9 e FCAV 10 (Tabela 6). Na segunda avaliação, a percentagem de juvenis ativos nas suspensões bacterianas dos isolados FCAV 1 e FCAV 6 foi menor que na testemunha, mas não diferiram dos resultados obtidos com os isolados FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4 e FCAV 10 (Tabela 6). Quanto a percentagem de juvenis inativos houve diferença significativa entre os isolados FCAV 1 e FCAV 6, em relação à testemunha, mas esses não diferiram entre si nem dos isolados FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4 e FCAV 10. No nono dia de imersão dos juvenis às suspensões bacterianas não houve diferença entre os tratamentos. Os dados indicam que o isolado FCAV 6 teve uma ação deletéria mais pronunciada tanto para ovo (Tabela 2) quanto para juvenis de *M. javanica* no terceiro e sexto dias da avaliação (Tabela 6).

Tabela 6. Percentagem de juvenis de segundo estágio ativos e inativos de *Meloidogyne javanica* no período de nove dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,2). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Juvenis de segundo estágio											
	3º Dia			6º Dia			9º Dia					
	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos			
Isolado FCAV 1	310,63	76,25	23,75 b	177,60	41,07 b	58,93 a	93,75	91,67	8,33			
Isolado FCAV 2	150,42	49,24	50,76 a	343,23	69,44 ab	30,55 ab	81,25	50,00	50,00			
Isolado FCAV 3	148,96	93,18	6,82 b	137,50	82,29 ab	17,71 ab	56,25	75,00	25,00			
Isolado FCAV 4	444,58	70,36	29,64 ab	475,00	57,08 ab	42,92 ab	62,50	75,00	25,00			
Isolado FCAV 5	300,21	100,00	0,00 b	173,96	100,00 a	0,00 b	106,25	34,72	65,28			
Isolado FCAV 6	197,81	48,03	51,97 a	73,96	44,23 b	56,77 a	12,50	75,00	25,00			
Isolado FCAV 7	96,46	96,88	3,13 b	217,71	100,00 a	0,00 b	70,00	75,00	25,00			
Isolado FCAV 8	124,58	96,51	3,49 b	394,79	100,00 a	0,00 b	106,25	75,00	25,00			
Isolado FCAV 9	710,63	71,13	28,87 ab	181,25	100,00 a	0,00 b	100,00	75,00	25,00			
Isolado FCAV 10	80,63	66,67	33,33 ab	303,13	75,00 ab	25,00 ab	87,50	75,00	25,00			
Testemunha (água)	100,00	100,00	0,00 b	100,00	100,00 a	0,00 b	100,00	75,00	25,00			
Teste F(Tratamento)	0,66 ^{ns}	1,71 ^{ns}	2,58*	1,01 ^{ns}	2,38*	2,68*	0,83 ^{ns}	1,12 ^{ns}	1,19 ^{ns}			
CV%	47,79	27,12	54,07	43,25	37,76	34,12	26,42	24,50	31,02			

Dados transformados em (log x + 0,5).

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

Na imersão de Juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, por seis dias, em suspensões bacterianas dos isolados *B. megasterium* pv *cerealis*, *A. piechaudii*, *B. amyloliquefaciens*, *K. ascorbata*, *B. thuringiensis kurstakii*, *E. cloacae*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis kenya*, observou-se, na primeira avaliação, que os isolados *B. thuringiensis kurstakii* e *B. pumilus* apresentaram as menores médias no total de juvenis recuperados, diferindo estatisticamente da testemunha e do isolado *B. amyloliquefaciens*. Contudo, não diferiram dos demais tratamentos (Tabela 7). Entretanto, na avaliação de Juvenis ativos não houve diferença estatística entre os tratamentos. Já para a avaliação dos juvenis inativos, ou supostamente mortos, o isolado que propiciou a maior média foi o *B. amyloliquefaciens*, diferindo da testemunha e do tratamento e *B. thuringiensis kenya*. Os demais tratamentos não apresentaram não interferiram na motilidade dos juvenis.

Na segunda avaliação (Tabela 7), o isolado *B. thuringiensis kurstakii* permaneceu entre os tratamentos que obtiveram a menor média quanto ao total de juvenis recuperados, diferindo da testemunha, mas não diferiram dos isolados *Bacillus megasterium* pv *cerealis*, *Enterobacter cloacae*, *B. subtilis* e *B. thuringiensis kenya* (Tabela 7). Para os juvenis inativos o isolado *B. amyloliquefaciens* propiciou a maior média, diferindo da testemunha e do isolado *B. subtilis* que apresentaram as menores médias. Esses resultados evidenciam o potencial do isolado *B. amyloliquefaciens*, como um agente promissor no controle biológico de nematóides.

Tabela 7. Percentagem de juvenis de segundo estágio ativos e inativos de *Meloidogyne incognita* no período de seis dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,7). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Juvenis de segundo estágio					
	3º Dia			6º Dia		
	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos
Isolado <i>Bacillus megasterium</i> pv <i>cerealis</i>	64,66 abc	72,00	28,00 ab	61,58 abc	71,90	28,10ab
Isolado <i>Alcaligenes piechaudii</i>	63,99 abc	64,50	35,50 ab	83,21 a	68,87	31,15ab
Isolado <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	125,00 a	51,00	49,21 a	127,35 a	48,35	51,65a
Isolado <i>Kluyvera ascorbata</i>	112,60 ab	67,25	32,77 abc	90,66 ab	71,25	28,75ab
Isolado <i>Bacillus thuringiensis kurstakii</i>	10,50 bc	75,00	25,00 ab	11,60 c	75,00	25,00 ab
Isolado <i>Enterobacter cloacae</i>	83,74 ab	69,50	30,50 abc	77,00 abc	70,80	29,20 ab
Isolado <i>Bacillus pumilus</i>	84,26 ab	81,25	18,75 abcd	82,30 ab	76,89	23,10ab
Isolado <i>Bacillus cereus</i>	64,56 abc	56,00	44,00 ab	63,60 abc	56,49	43,53a
Isolado <i>Bacillus subtilis</i>	13,49 bc	94,25	5,76 cd	13,80 bc	94,23	5,78 bc
Isolado <i>B. thuringiensis kenyae</i>	42,25 abc	69,25	30,55 abc	74,75 ab	68,75	31,25ab
Testemunha (água)	100,00a	97,50	2,50 cd	100,00 a	97,43	2,57 bc
Teste F (Tratamento)	2,45*	0,55 ^{ns}	2,95*	3,38**	0,66 ^{ns}	4,06**
CV%	44,28	31,05	113,46	42,83	30,97	74,79

Dados transformados em (log x + 0,5).

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

A Tabela 8 contém os resultados da imersão, por 6 dias, de juvenis de *M. javanica* em suspensões bacterianas dos isolados *B. megasterium* pv *cerealis*, *A. piechaudii*, *B. amyloliquefaciens*, *K. ascorbata*, *B. thuringiensis kurstakii*, *E. cloacae*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis kenyae*. Na primeira avaliação não se recuperou juvenis no tratamento *B. pumilus*. Com efeito, esse tratamento diferiu da testemunha, mas não diferiu do isolado *B. cereus*. Mesmo assim, por ter exibido uma completa inativação dos juvenis não foi considerado promissor para o controle biológico de *M. javanica*, pois na segunda avaliação este isolado apresentou elevado número de juvenis recuperados. Na avaliação de juvenis ativos, como mencionado, não foram recuperados juvenis do nematóide com o isolado *B. pumilus*, diferindo da testemunha, mas, mesmo assim, não diferiu do isolado *E.r cloacae* (Tabela 8). Na avaliação de juvenis inativos ou supostamente mortos não houve diferença estatística entre os tratamentos. O mesmo ocorreu na segunda avaliação, em relação a todas as três variáveis avaliadas (total, ativos e inativos) não tendo sido observadas diferenças significativas entre os isolados (Tabela 8).

SIDDIQUI et al. (2001) também verificaram por meio de testes in vitro um efeito nematocida de diferentes isolados de *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* sobre juvenis de segundo estágio de *M. javanica* e zonas de inibição do crescimento de *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani*. Os autores observaram, ainda, em casa de vegetação e campo, diferentes níveis de supressão da infecção causada por tais fungos e pelos nematóides em *Vigna radiata* (L). Entretanto, em cultura de alface, PIMENTA & CARNEIRO (2005), utilizando endósporos de *Pasteuria penetrans*, não obtiveram redução da população de *M. javanica* em testes conduzidos em casa de vegetação.

Resultados similares foram obtidos por Neves et al. (2000) testando dez isolados de *Pseudomonas syringae* pv. tomato contra *M. incognita* e *M. javanica* em tomateiro, observaram uma redução de 77,4% no número de ovos e 66,4% no número de galhas, quando comparados com a testemunha. Os autores observaram também uma especificidade da bactéria em relação aos nematóides. Os mais eficientes contra *M. javanica* não foram os mesmos para *M. incognita*.

Tabela 8. Percentagem de juvenis de segundo estágio ativos e inativos de *Meloidogyne javanica* no período de seis dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,7). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Juvenis de segundo estágio					
	3º Dia			6º Dia		
	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos
Isolado <i>Bacillus megasterium</i> pv <i>cerealis</i>	58,33 ab	91,50 a	8,50	288,48	93,18	6,82
Isolado <i>Alcaligenes piechaudii</i>	158,33a	100,00 a	0,00	118,18	75,00	25,00
Isolado <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	179,17a	70,83 ab	29,17	471,66	73,91	26,09
Isolado <i>Kluyvera ascorbata</i>	116,67a	62,49 ab	37,51	176,13	75,00	25,00
Isolado <i>Bacillus thuringiensis kurstakii</i>	95,83 a	75,00 ab	25,00	176,36	100,00	0,00
Isolado <i>Enterobacter cloacae</i>	87,50 a	75,00 ab	25,00	98,48	71,42	28,58
Isolado <i>Bacillus pumilus</i>	0,00 b	0,00 c	0,00	296,81	75,00	25,00
Isolado <i>Bacillus cereus</i>	129,17a	79,16 a	20,84	455,15	99,24	0,76
Isolado <i>Bacillus subtilis</i>	166,67a	100,00 a	0,00	60,60	87,50	12,50
Isolado <i>B. thuringiensis kenyae</i>	31,25 ab	50,00 ab	50,00	110,00	100,00	0,00
Testemunha (água)	100,00a	100,00 a	0,00	100,00	100,00	0,00
Teste F (Tratamento)	2,67*	4,11**	1,18 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,61 ^{ns}
CV%	9,14	88,30	121,78	77,37	1,43	130,74

Dados transformados em (log x + 0,5).

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

Na avaliação de isolados bacterianos em suspensão sobre espécimes de *P. zea* imersos por nove dias aos diferentes isolados (FCAV1, FCAV 2, FCAV 3, FCAV 4, FCAV 5, FCAV 6, FCAV 7, FCAV 8, FCAV 9 e FCAV 10), observou-se diferença estatística entre os tratamentos nas três avaliações para as formas ativas e inativas do nematóide. Contudo, para a porcentagem total de espécimes recuperados não houve diferença entre os isolados nem na primeira nem na segunda avaliação (Tabela 9).

Nos tratamentos relativos aos isolados FCAV 5 e FCAV 7 não foram recuperados nem formas ativas nem inativas. Esse fato indica que os isolados inativaram os espécimes do nematóide sobre o papel na câmara de eclosão e, por conseguinte, podem ter uma promissora ação como agentes do controle biológico de *P. zea* (Tabela 9). Entre os demais tratamentos, nenhum exibiu ação pronunciada sobre a atividade de *P. zea*. Portanto, não são considerados agentes promissores para o controle do nematóide.

Na avaliação de isolados bacterianos em suspensão sobre espécimes de *P. zea* imersos por seis dias aos isolados bacterianos *B. megasterium* pv *cerealis*, *A. piechaudii*, *B. amyloliquefaciens*, *K. ascorbata*, *B. thuringiensis kurstakii*, *E. cloacae*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis kenya*. observou-se diferença estatística para a média total de formas ativas e para e inativos. Na avaliação de formas ativas não foi observado nenhuma diferença estatística significativa, na primeira avaliação. Contudo, na segunda avaliação, as porcentagens totais de espécimes recuperados e formas ativas apresentaram diferença estatística significativa, enquanto a avaliação para formas inativas não evidenciou diferença entre os isolados (Tabela 10).

Nos tratamentos relativos ao isolado *B. amyloliquefaciens* não foram recuperados nem formas ativos nem inativos em nenhuma avaliação. Esse fato foi observado também na avaliação para *P. zea* com os isolados FCAV 5 e FCAV 7 (Tabela 9). Esses resultados indicam que tais isolados inativaram os espécimes do nematóide ainda na superfície do papel da câmara de eclosão e, por conseguinte, podem ter uma promissora ação como agentes do controle biológico de *P. zea*. Entre os demais tratamentos, nenhum exibiu ação pronunciada sobre a atividade de *P. zea* (Tabela 10).

Tabela 9. Percentagem de formas ativas de *Pratylenchus zeae* no período de nove dias de imersão em suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,2). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Espécimes recuperados											
	3º Dia				6º Dia				9º Dia			
	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos
Isolado FCAV 1	86,25	50,00 abc	50,00 ab	41,67	50,00 ab	50,00 ab	0,00 c	50,00 ab	50,00 ab	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 2	57,50	75,00 ab	25,00 ab	99,91	36,25 ab	43,75 ab	0,00 c	36,25 ab	43,75 ab	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 3	42,50	42,86 bc	57,14 ab	95,83	50,00 ab	50,00 ab	0,00 c	50,00 ab	50,00 ab	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 4	117,50	37,50 bc	62,50 ab	108,33	25,00 ab	75,00 a	83,33 b	25,00 ab	75,00 a	25,00 b	75,00 a	75,00 a
Isolado FCAV 5	0,00	0,00 c	0,00 b	0,00	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 6	140,63	25,00 bc	75,00 a	145,83	55,00 ab	45,00 ab	0,00 c	55,00 ab	45,00 ab	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 7	0,00	0,00 c	0,00 b	0,00	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 8	135,00	25,0 bc	75,00 a	12,50	25,00 ab	75,00 a	0,00 c	25,00 ab	75,00 a	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 9	143,57	34,71 bc	65,29 ab	179,17	29,17 ab	70,84 a	0,00 c	29,17 ab	70,84 a	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Isolado FCAV 10	28,75	50,00 abc	50,00 ab	0,00	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 b	0,00 b
Testemunha (água)	100,00	100,00 a	0,00 b	100,00	83,33 a	16,67 ab	100,00 a	83,33 a	16,67 ab	100,00 a	58,33 a	41,67 a
Teste F (Tratamento)	1,77 ^{ns}	3,08 ^{**}	2,83 [*]	1,31 ^{ns}	3,82 ^{**}	2,22 [*]	8,68 ^{**}	3,82 ^{**}	2,22 [*]	8,68 ^{**}	7,73 ^{**}	6,32 ^{**}
CV%	67,08	77,88	43,64	61,67	58,02	43,65	55,12	58,02	43,65	55,12	39,12	41,70

Dados transformados em (log x + 0,5)

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

Tabela 10. Percentagem de formas ativas de *Pratylenchus zeae* no período de seis dias de imersão a suspensões de rizobactérias de diferentes isolados. (Densidade ótica OD₆₂₅=0,7). UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. 2009.

Tratamento	% de Espécimes recuperados								
	3º Dia			6º Dia					
	Total	Ativos	Inativos	Total	Ativos	Inativos			
Isolado <i>Bacillus megasterium</i> pv	5,00	cd	10,00	b	12,24	abcde	75,00	ab	25,00
Isolado <i>Alcaligenes piechaudii</i>	17,14	bcd	5,00	b	15,82	abcd	50,00	abc	50,00
Isolado <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,00	d	0,00	b	0,00	e	0,00	c	0,00
Isolado <i>Kluyvera ascorbata</i>	16,26	bcd	85,00	b	14,16	abcde	100,00	a	0,00
Isolado <i>Bacillus thuringiensis kurstakii</i>	10,00	cd	75,00	ab	10,23	cde	97,22	a	2,78
Isolado <i>Enterobacter cloacae</i>	176,92	a	50,00	a	14,86	abcde	50,00	abc	50,00
Isolado <i>Bacillus pumilus</i>	64,42	ab	58,33	a	64,13	ab	66,20	abc	33,80
Isolado <i>Bacillus cereus</i>	26,26	abc	50,00	a	25,17	abc	50,00	abc	50,00
Isolado <i>Bacillus subtilis</i>	7,14	cd	75,00	ab	7,69	de	35,00	bc	65,00
Isolado <i>B. thuringiensis kenya</i>	12,69		25,00	a	10,31	cde	100,00	a	0,00
Testemunha (água)	100,00a		79,01	ab	100,00a		75,17	ab	24,83
Teste F (Tratamentos)	3,03**		0,99 ^{ns}		2,48*		3,4**		1,63 ^{ns}
CV%	114,54		131,30		85,51		107,77		81,63

Dados transformados em (log x + 0,5)

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

4.3. Manejo de *Pratylenchus zae* em Cana-de-açúcar variedade SP87-365

Na avaliação do controle de nematóides no solo (Tabela 11) observou-se que a população de nematóides no solo diferiu estatisticamente entre os tratamentos, apenas aos 60 dias após o plantio. O tratamento 2 (Testemunha na entrelinha), propiciou a menor população de *P. zae* diferindo do Aldicarbe na linha e na entrelinha e, do isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha.

Nas raízes (Tabela 12), a população de *P. zae* entre os tratamentos exibiu diferenças apenas aos 60 dias após o plantio, sendo o tratamento 2 (Testemunha na entrelinha), o que propiciou menor média, diferindo estatisticamente da testemunha na linha e dos tratamentos 5 (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha) e 6 . (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha). A população do nematóide no solo manteve-se baixa até os 60 dias após a implantação do teste. Entretanto, observou-se que a partir dos 60 dias quando a disponibilidade de raízes era maior a densidade populacional aumentou nas amostras de raízes, confirmando o hábito de endoparasito do nematóide.

A presente pesquisa mostrou que tanto para o número de nematóides no solo como nas raízes, a partir dos 60 dias após o plantio, os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, evidenciando que o tratamento com aldicarbe não foi superior aos demais. Esse efeito também foi observado por OLIVEIRA et al. (2008). De fato, esses pesquisadores observaram que passado o efeito residual do aldicarbe, os níveis populacionais dos fitonematóides aumentaram. Além disso, nas soqueiras subsequentes não observaram qualquer benefício do tratamento.

Tabela 11. Média da população de nematóides extraídos de 100 cm³ de solo pelo método de JENKINS, (1964) em cana-de-açúcar. Jaboticabal-SP, 2009.

Tratamento	Dias após o plantio						
	30	60	90	120	150	180	270
Testemunha na linha	118,00	36,00ab	18,00	32,00	30,00	33,00	50,00
Testemunha na entrelinha	129,00	9,00 b	29,00	38,75	38,50	34,00	43,00
Aldicarbe na linha	82,00	56,50a	11,00	14,00	12,00	61,00	104,00
Aldicarbe na entrelinha	122,00	68,00a	5,00	36,00	36,00	28,00	89,00
Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha	144,00	85,50a	22,00	40,00	38,00	16,00	75,00
Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha	193,00	36,00ab	31,75	18,25	18,50	46,00	99,00
Teste F (Tratamento)	1,11 ^{ns}	3,06*	5,94 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,90 ^{ns}	2,90 ^{ns}
C. V (%)	27,30	38,74	55,10	47,43	47,43	58,13	42,49

Dados transformados em (log x + 0,5)

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

Tabela 12. Média da população de nematóides extraídos de 10 g de raízes de cana-de-açúcar, pelo método de Coolen & D' Herde (1974). Jaboticabal-SP, 2009.

Tratamento	Dias após o plantio						
	60	90	120	150	180	270	
Testemunha na linha	56,50 ab	19,00	54,00	50,00	139,00	593,00	
Testemunha na entrelinha	16,50 c	21,00	108,00	100,00	210,00	1350,00	
Aldicarbe na linha	20,00 bc	7,00	64,00	64,00	108,00	2687,00	
Aldicarbe na entrelinha	50,50 abc	12,00	54,00	56,00	180,00	838,00	
Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha	114,00 a	26,00	154,00	154,00	64,00	1077,00	
Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha	117,50 a	44,00	15,25	20,25	84,00	930,00	
Teste F (Tratamento)	5,88**	1,58 ^{ns}	1,75 ^{ns}	1,25 ^{ns}	1,03 ^{ns}	1,29 ^{ns}	
C. V (%)	40,68	53,73	53,73	52,70	44,04	13,23	

Dados transformados em $(\log x + 0,5)$

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

As análises biométricas da cultura, aos 210 dias (Tabela 13), evidenciaram que para a variável altura dos colmos os tratamentos 2 (Testemunha na entrelinha) e 4 (Aldicarbe na entrelinha) apresentaram as menores médias de altura das plantas, não diferindo entre si, mas, diferindo estatisticamente dos demais. O Tratamento 6 (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha) propiciou as maiores médias em relação a altura das plantas. Contudo, não diferiram dos tratamentos 1 (Testemunha na linha de plantio), 3 (Aldicarbe na linha de plantio) e 5 (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha de plantio).

Na avaliação relativa ao número de perfilhos, o tratamento biológico na entrelinha foi mais eficaz. Com efeito, o tratamento 5 (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha) propiciou a maior média em relação ao número de perfilhos da cana-de-açúcar, diferindo estatisticamente de todos os demais tratamentos (Tabela 13).

Nas análise biométricas os tratamentos 5 (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha de plantio) e 6 (Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha), apresentaram maior quantidade de perfilhos e maior média de altura da planta respectivamente, embora não apresentaram as menores médias para a população dos nematóides, confirmando a teoria de CONN et al. (1997). Esses autores opinaram que o efeito das rizobactérias pode ser indireto por meio do aumento da taxa de germinação, crescimento de raízes, crescimento de colmos ou caule e tubérculos, aumento de flores e aumento de rendimento. Segundo esses autores esses efeitos podem ser resultantes da produção de ácido cianídrico, fitormônios, enzimas como a ACC-deaminase, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos, fixação do nitrogênio e aumento da absorção pelas raízes, entre outros, decorrentes da ação dessas bactérias.

Tabela 13. Média das variáveis biométricas altura e número de perfilhos de cana-de-açúcar, aos 270 dias. Jaboticabal-SP, 2009.

Média das Análises Biométricas		
Tratamentos	Altura (cm)	Número de Perfilho
Testemunha na linha	121,97 a	176,17 b
Testemunha na entrelinha	104,96 b	153,50 b
Aldicarbe na linha	125,67 a	176,17 b
Aldicarbe na entrelinha	104,73 b	178,92 b
Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na linha	119,71 a	203,17a
Isolado FCAV 9 + adubo organomineral na entrelinha	120,84 a	175,25 b
F (Tratamentos)	13,86**	3,48**
C. V (%)	23,03	16,52

Dados sem transformar

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade;

*Significativo a 5% de probabilidade;

**Significativo a 1% de probabilidade;

^{ns} Não significativo.

V. CONCLUSÕES

Nas condições da presente pesquisa, a dinâmica de população de *P. zae* mostrou que no solo a população do nematóide tende a aumentar com o início do período das chuvas. Nas raízes esse aumento se inicia nos meses mais frios e secos do ano e com o início das chuvas a expressiva produção de raízes novas dá suporte a aumentos mais expressivos da população do nematóide.

Os isolados bacterianos FCAV 6, FCAV 8 e FCAV 10 apresentaram pronunciada ação ovicida para *M. javanica*. Entretanto, não tiveram a mesma ação contra ovos de *M. incognita*. Entre os isolados testados sobre a motilidade dos nematóides de galhas, nenhum evidenciou potencial como agente do controle de juvenis de segundo estágio. Os isolados FCAV 5, FCAV 7 e *B. amyloliquefaciens* exibiram potencial como agentes do controle biológico de *P. zae*. Estes resultados confirmam que entre as rizobactérias podem ser encontrados agentes eficazes para o controle de nematóides.

Nos testes a campo, o isolado de rizobactéria FCAV 9 + adubo organomineral aplicado na linha evidenciou maior eficácia que os demais tratamentos em relação à variável biométrica número de perfilhos.

VI. REFERÊNCIAS

AALTEN, P. M.; VITOUR, D.; BLANVILLAIN, D.; OWEN, S. R.; SUTRA, L. Effect of rhizosphere fluorescent *Pseudomonas* strains on plant-parasitic nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. **Letters in Applied Microbiology**, Reading, v. 27, n. 37, p. 357-361, 1998.

ABAWI, G. S.; CHEN, J. Concomitant pathogen and pest interactions. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAN, G. L. **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. p. 135-158.

ARAÚJO, F.F de.; Veloso-Silva, J. F.; ARAÚJO, A. S. F. de. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja . **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.2, p.197-202, 2002.

BARBOSA, B. F. F, 2008. **Estudos das inter-relações patógeno hospedeiro de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *Pratylenchus brachyurus*(Godfrey) Filipjev & Scurmans Stekhoven em cana de açúcar**. 2008. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Entomologia Agrícola). Departamento de Fitossanidade, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

BRIEGER, F.A. **Recomendações para o plantio da cana-de-açúcar**. São Paulo. Cooperativa Oeste do Estado de São Paulo, Boletim n.10. 1962.

CADET, P; SPAULL, V.W. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC et al. (2005). **Plant parasitic nematodes in tropical and subtropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 2005. p.645-674.

CARVALHO, J. da S.; VOLPE. H. X. L.; VIEL, S.V.; GOULART, R. M.; VACARI, A. M.; ROSSATO-JUNIOR, J. A. de S.; BORTLI, S. A. de. Pragas da cana-de-açúcar: Descrição, Dano e Controle. In: ARAUJO, E. de S.; VACARI, A. M.; CARVALHO, J. da S.; GOULART, R. M.; CAMPOS, A. A de; VOLPE. H. X. L. **Tópicos em Entomologia Agrícola**, Jaboticabal, p.55-70. 2008.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 32, p. 117-121, 2000.

CLIFF G. M.; HIRSCHMANN, H. H. Evaluation of morphological variability in *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v. 17, p. 445-449, 1985.

CONN, K. L.; NOWAK, J.; LAZAROVITS, G. A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. Canadian **Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 801-808, 1997.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77 p.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Manejo de nematóides em cana-de-açúcar.** Disponível em <<http://www.jornnalcana.com.br>> Acesso em 16 out. 2008.

EISENBACK, J. D.; HIRSCHMANN, H.; SASSER, J. N.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. **A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) with a pictorial key.** Raleigh: The Departments of Plant Pathology and Genetics of North Carolina State University and United States Agency for International Development, 1981. 48 p.

EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology.** Beltsville: Beltsville Agricultural Research Service, 1991. p. 191-274.

ENEBAK, S.A.; WEI G. & KLOEPPER, J.W. **Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on loblolly and slash pine seedlings.** For. Sci., 44:139-144. 1998.

FREITAS, G. L. **Rizobacterias versus Nematóides.** Disponível em <<http://www.ufv.br>>. Acesso em 12 de mar. 2008.

GONZAGA, V, 2006. **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação in vitro das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filijev, 1936 que ocorrem no Brasil.** 2006. 78 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Departamento de Fitossanidade, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 57, p. 1.025-1.028, 1973.

icas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25; p. 102-103, 2000.

JENKINS, W. R. A. Rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

KLOEPPER, J.W.; RODRIGUEZKABANA, 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**, v.139, n.1, p.75-84, 1992.

LAZAROVITZ, G.; NOWAK, J. *Rhizobacterium* for improvement of plant growth and establishment. **Hortscience**, Cuyo, v. 32, p. 188-192, 1997.

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

LORDELLO, L. G. E. **Nematóides das plantas cultivadas**. Nobel, 1992. p 125-147.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento em plantas e bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 1-49. 1996.

MARIANO, R. de. L. R.; SILVEIRA, E. B. da.; ASSIS, S. M. P. de.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004.

MEYER, J. M.; ABDALLAH, M. A. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. **Journal of General Microbiology**, Cambridge, v. 107, p. 319-328, 1978.

NEVES, W. S.; FREITAS, L. G.; ROMEIRO, R. S.; SILVA; ALVES, H. S. Controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em tomateiro por bactérias endofítas

NOVARETTI, W.R.T., ROCCIA, A.O., LORDELLO, L.G.E. & MONTEIRO, A.R. Contribuição ao estudo dos nematóides que parasitam a cana-de-açúcar em São Paulo. **Anais, 1ª Reunião Brasileira de Nematologia**, Piracicaba, SP. 1974. pp.27-32.

OLIVEIRA.F. S.; ROCHA, M. R.; TEIXEIRA, R. A.; FALEIRO, V. O.; SOARES, R. A. Efeito de sistemas de cultivo no manejo de *Pratylenchus spp.*, na cultura da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba. 2008

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R. A. Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. **Review Nematology**, Nussalle, v. 12, p. 77-83, 1990.

PIMENTA, C.A.M.; CARNEIRO, R.M.D.G. Utilização de *Pasteuria penetrans* em controle biológico de *Meloidogyne javanica* em duas culturas sucessivas de alface e tomate. **Cenargen**, Brasília. 2005. 36p.

ROBBS, C. Bactérias como potencial de controle biológico de Fitopatógenos. In: Bettiol, W. (org.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Brasília: Embrapa. p. 121-133. 1991.

ROSSETO, R.; SANTIAGO, A. D. Agência de informação Embrapa: **Cana-de-açúcar. Nematóides**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>> Acesso em 18 jun 2009.

SANTOS, J. M. **Estudos das principais espécies de *Meloidogyne* Goeldi que infectam o cafeeiro no Brasil com descrição de *Meloidogyne goeldii* sp. n.** 1997. 153 fls. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agronômicas - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

SIDDIQI, Z. A.; IQBAL, A.; MAHMOOD, I. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Applied Soil Ecology Ecology**, Aligarh , v. 16, p. 179-185, 2001.

SIDDIQUI, Z. A.; SHAIKAT, S. S. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production. **Journal of Phytopathology**, Karachi, v. 152, p. 48-54, 2004.

SIKORA, R. A; BRIDGE, J ;STARR, J.L. Management Practices: na Overview of Integrated Nematode Management Technologies. In: LUC et al. (2005). **Plant parasitic nematodes in tropical and subtropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 2005. p.793-841.

SOARES, P. L. M. **Estudos do Controle Biológico de Fitonematóides com Fungos Nematófagos**. 2006. 217f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola). Departamento de Fitossanidade, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

SOUTHEY, J. F. **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. (5 ed). London: Minist. Agric. Fisch. Fd., 1970. 148 p. (Bulletin 2)

SPAULL, V.W. & CADETT, P. Nematode parasites of sugarcane. In: Luc, M., Sikora R.A. & Bridge, J. (Eds.) **Plant parasitic nematodes** in subtropical and tropical agriculture. Wallingford. C.A.B. International Institute of Parasitology, C.A.B. International. 1990. p.461-491.

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

TAYLOR, A. L.; NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica**, Leiden, v. 20, p. 268-269, 1974.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372 p.

ÚNICA (UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR). Produção Brasil. Produção de cana-de-açúcar no Brasil. Disponível em: <http://www.unica.com.br>. Acesso em 12 dez 2009.

WESTCOTT, S. W.; KLUEPFEL, D. A. Inhibition of *Criconemella xenplax* egg hatch by *Pseudomonas aureofaciens*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, p. 1245-1249, 1993.