

CLÉIA DE FÁTIMA SILVA FABRY

**CONTROLE DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* POR RIZOBACTÉRIAS DE
PLANTAS ANTAGONISTAS A FITONEMATÓIDES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2002**

CLÉIA DE FÁTIMA SILVA FABRY

**CONTROLE DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* POR RIZOBACTÉRIAS DE
PLANTAS ANTAGONISTAS A FITONEMATÓIDES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de março de 2002.

Prof. Murilo Geraldo de Carvalho
(Conselheiro)

Prof. Reginaldo da Silva Romeiro
(Conselheiro)

Prof. Silamar Ferraz

Dr. Luiz Antônio dos Santos Dias

Prof. Leandro Grassi de Freitas
(Orientador)

Ao meu marido Rainer Fabry

Aos meus pais Maria e Lourival

À minha irmã Cleide

Aos meus irmãos Cláudio, João, Gilsmando e Wanderson

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela formação profissional e pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao meu marido, Rainer Fabry, pela paciência, pelo carinho e pela compreensão.

Ao professor Leandro G. Freitas, pela atenção, pelo apoio, pela orientação e pela amizade.

Aos conselheiros prof. Reginaldo da Silva Romeiro e prof. Silamar Ferraz, pelas sugestões que contribuíram para a melhoria deste trabalho.

Ao pesquisador da CEPLAC, Dr. Luiz Antônio Dias, pela colaboração e pelo apoio nas análises estatísticas.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos colegas, amigos e estagiários do laboratório de Nematologia/BIOAGRO, Brener, Cláudia, César, Deisy, Edson, Fábio, Marcelo, Rosângela, Wânia e Vinícius, pelas sessões de humor, pelo convívio, pelo apoio, pela ajuda e pela amizade.

À amiga Alessandra, pela preocupação e pela presença nos momentos de muita e pouca alegria.

Aos amigos e colegas de curso, Dagoberto, Dirceu, Eduardo, Maria Raquel, Renato e Suzuki, pelo coleguismo e pela amizade durante as disciplinas e depois das mesmas.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, pela colaboração e pela boa vontade.

ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. Multiplicação do inóculo de <i>Meloidogyne javanica</i>	11
3.2. Obtenção dos isolados bacterianos	12
3.2.1. Obtenção do solo.....	12
3.2.2. Tratamento térmico do solo.....	12
3.2.3. Preparo do solo para isolamento das bactérias	12
3.2.4. Isolamento das rizobactérias.....	13
3.3. Avaliação do potencial antagonístico dos isolados obtidos sobre <i>Meloidogyne javanica</i>	14
3.3.1. Bioteste com solo tratado termicamente e com suspensões bacterianas	14
3.3.2. Seleção massal dos isolados bacterianos	14
3.3.3. Reavaliação das bactérias com potencial antagonístico a <i>Meloidogyne javanica</i> a partir da seleção massal	15
3.3.4. Avaliação do efeito do substrato onde se desenvolve a raiz sobre o antagonismo de rizobactérias a <i>M. javanica</i>	16
3.3.5. Avaliação dos isolados bacterianos sobre a eclosão de juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i>	16
3.4. Procedimento estatístico.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1. Isolados obtidos	18

4.2. Bioteste com solo tratado termicamente e com as suspensões bacterianas	18
4.3. Seleção massal dos isolados bacterianos.....	22
4.4. Reavaliação dos isolados promissores obtidos da seleção massal ..	29
4.5. Avaliação do efeito do substrato onde se desenvolve a raiz sobre o antagonismo de rizobactérias a <i>M. javanica</i>	30
4.6. Avaliação dos isolados com potencial antagonístico a <i>M. javanica</i> na eclosão de juvenis	33
5. CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
APÊNDICE	48

RESUMO

FABRY, Cléia de Fátima Silva, M.S, Universidade Federal de Viçosa, março de 2002. **Controle de *Meloidogyne javanica* por rizobactérias de plantas antagonistas a fitonematóides.** Orientador: Leandro Grassi de Freitas. Conselheiros: Murilo Geraldo de Carvalho e Reginaldo da Silva Romeiro.

Uma amostra de solo com alto teor de matéria orgânica foi dividida em frações de 1 kg e estas foram submetidas ao tratamento térmico em autoclave (120°C/1 h), em forno de microondas (4min) ou não tratadas (natural). Raízes de *Mucuna aterrima*, *Crotalaria juncea*, *Tagetes erecta* e *Lycopersicon esculentum* foram maceradas em liquidificador, peneiradas e os sucos resultantes foram adicionados, separadamente, aos três tipos de solo, aguardando-se 24h a 28°C. Isolados bacterianos foram obtidos por diluição serial como descrito por ROMEIRO (2001), a partir de suspensão aquosa de cada substrato, obtendo-se 78 isolados de rizobactérias. As rizobactérias foram submetidas à seleção massal em que sementes de tomate foram microbiolizadas por imersão em suspensão de propágulos de cada uma das culturas, semeadas e o solo foi infestado com *M. javanica*. Dos 78 isolados, 56 reduziram o número de galhas e 22 não apresentaram diferença significativa em relação ao controle. Quanto ao número de ovos presentes nas raízes, 26 isolados ocasionaram a redução, 43 não diferiram do controle e nove estimularam a formação. O isolado UFV-6 reduziu o número de galhas em maior proporção (80%) ao passo que o isolado UFV-8 foi o mais eficiente na

redução do número de ovos (83%). Ambos os isolados foram provenientes do tratamento térmico de solo em microondas acrescidos do suco de raízes de *T. erecta* e de *M. aterrima*, respectivamente. Em contraposição, o isolado UFV-48 foi o mais deletério. Os dez isolados mais promissores foram reavaliados, em recipientes maiores pela inoculação com 1000 ovos de *M. javanica* por tubete e com 10 repetições. Não foi encontrada diferença no que tange ao número de galhas, mas os isolados UFV-41 e UFV-8 foram os mais eficientes em reduzir o número de ovos (35,3% e 35,0%, respectivamente). Os isolados UFV-29 e UFV-31 permitiram o aumento do número de ovos. Para investigar se o tipo de substrato pode potencializar a capacidade antagonista dos isolados UFV-8 e UFV-57 a *M. javanica*, comparou-se solo de terriço de mata com solo de barranco, com 15 repetições por tratamento. Os isolados reduziram galhas em 34,9% e 36,4% no solo de terriço e 41,5% e 35,3% em solo de barranco, respectivamente, não apresentando diferença significativa quanto ao tipo de substrato. Avaliou-se também a inibição da eclosão de juvenis *in vitro*. Os isolados mais eficientes na inibição de eclosão foram UFV-6 e UFV-53 reduzindo a eclosão em 64,9% e 85,7% respectivamente.

ABSTRACT

FABRY, Cléia de Fátima Silva, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, March 2002. **Control of *Meloidogyne javanica* by rhizobacteria from antagonistic plants to phytonematode.** Advisor: Leandro Grassi de Freitas. Committee members: Murilo Geraldo de Carvalho and Reginaldo da Silva Romeiro.

Five 1-kg samples of organic soil were autoclaved at 120°C for 1 hour, five were microwaved in a 660 watts and 2450Hz microwave oven at full power for 4 minutes, and five were not heat-treated. Roots of *Mucuna aterrima*, *Crotalaria juncea*, *Tagetes erecta* and *Lycopersicon esculentum* were macerated, separately, in 1000 mL of tap water in a blender at low speed for 30 seconds, sieved, and each of the resulting juices, or just tap water (control treatment) was poured on one of the treated and non-treated soil, inside of a plastic bag (5x3 factorial design). Each plastic bag was closed and vigorously shaken to mix the juice with the soil, and placed in the incubator at 28°C for 24 hours. Seventy eight bacterial isolates were obtained from all the soils by serial dilution. The screen of isolates for the biocontrol of *Meloidogyne javanica* was made by allowing tomato seeds to soak in water suspension of each bacterial isolate sowing them in substrate inside plastic tubes in the greenhouse, and inoculating the resulting seedlings with nematode eggs. Fifty six isolates promoted reduction of the number of root galls compared to the control treatment (seeds soaked in distilled water). Twenty six isolates

promoted reduction of the number of nematode eggs per root system. The isolate UFV-6 was the most effective in reducing the number of galls (80% less than the control), and UFV-8 was the most effective in reducing egg numbers (83% reduction). Both isolates came from microwaved soil, but the UFV-6 was isolated from soil amended with *T. erecta* root juice and the UFV-8 from soil amended with *M. aterrima* root juice. The UFV-48, isolated from non-heated soil amended with tomato root juice was the most deleterious, increasing the number of eggs in 134,3% compared to the control treatment. The ten most effective isolates were re-evaluated in larger recipients (400 mL plastic pots) by the inoculation with 1,000 *M. javanica* eggs per plant (one plant/pot) and 10 replicates per treatment. There was no statistical difference among treatments for the number of galls, but the number of eggs was reduced in 35,3% and 35% by the UFV-41 and the UFV-8, respectively. The isolates UFV-29 and UFV-31 promoted increase in the number of eggs. In order to investigate if the substrate type has influence in the performance of the rhizobacteria, two effective isolates, the UFV-8 and the UFV-57 were tested in a highly organic soil and in a B horizon soil, with 15 replicates. They promoted gall reductions of 34,9% and 36,9% in the organic soil and 41,5% and 35,3% in the B horizon soil, respectively. Both treatments differed from the control, but did not differ from each other. The effect of ten good candidates and ten deleterious ones on the *M. javanica* egg hatch was evaluated in vitro. The UFV-6 and UFV-53 were the most effective, reducing egg hatch in 64,9% and 85,7%, respectively.

1. INTRODUÇÃO

Os fitonematóides acarretam perdas na produção agrícola de 12% em média, o que corresponde a cerca de 100 bilhões de dólares por ano em todo o mundo (SASSER, 1989). Dentre os vários nematóides parasitas de plantas o gênero *Meloidogyne* se destaca como o principal responsável, pois ataca quase todas culturas de interesse econômico (SASSER & FRECKMAN, 1987).

O controle desses organismos pode ser feito pelo uso de defensivos químicos, entretanto, muitos desses produtos, por serem persistentes e acumulativos em ecossistemas naturais, podem ser perigosos para animais e humanos (BECKER et al., 1988). Portanto, existe o desejo de substituir esses agentes químicos por métodos alternativos e ecologicamente aceitos, como o controle biológico. Dentre os organismos antagonistas mais propícios para o controle biológico de fitonematóides estão: as rizobactérias promotoras de crescimento; bactérias parasitas obrigatórias; fungos nematófagos endoparasitas, parasitas de ovos de fêmeas, fungos predadores e fungos endomicorrízicos (SIKORA, 1992). Desses organismos, os mais estudados são os fungos, seguidos das bactérias. Entre as bactérias, a que tem sido mais estudada é a *Pasteuria penetrans*, uma vez que o gênero já foi relatado infectando nematóides pertencentes a mais de 325 espécies (CHEN & DICKSON, 1998).

Outros grupos de bactérias vêm despertando a atenção de alguns pesquisadores. Estudos extensivos têm sido realizados com rizobactérias e

bactérias endofíticas mostrando que estas reduzem os danos causados por fitonematóides (KLOEPPER et al., 1999). As rizobactérias são chamadas PGPR “Plant Growth Promotion Rhizobacteria”, termo empregado por KLOEPPER & SCHROTH (1978) para designar as rizobactérias que exercem efeito benéficos às plantas. Os efeitos são considerados benéficos por promoverem o crescimento das plantas e/ou por agirem no controle biológico de doenças (LUGTENBERG et al., 1991; KLOEPPER, et al., 1999; KLOEPPER et al., 1989; WELLER, 1988).

Dentre as PGPR, a espécie *Pseudomonas fluorescens* é a mais frequentemente isolada, principalmente durante períodos de grande produção de exsudatos radiculares (STIRLING, 1991). Essa bactéria possui grande habilidade de utilizar diferentes fontes de carbono e de competir com a microflora nativa, e grande agressividade na colonização da rizosfera (MAZZOLA et al., 1992).

As plantas antagonistas são também bastante utilizadas no controle de fitonematóides, porque produzem exsudatos radiculares tóxicos (MILLER & AHRENS, 1971) e/ou por mecanismos de resistência, criando condições que não permitam o desenvolvimento e reprodução do nematóide no sistema radicular (PEACOCK, 1959). Entre as plantas antagonistas a fitonematóides destacam-se as espécies dos gêneros: *Mucuna*, *Tagetes* e *Crotalaria* (FERRAZ et al., 2001).

As plantas com propriedades antagonistas são dotadas de outra característica marcante, que é possuir em sua rizosfera, bactérias distintas daquelas encontradas em plantas não antagonistas. Tais bactérias têm maior potencial no controle de fitonematóides, destacando-se as encontradas na rizosfera das leguminosas (KLOEPPER et al., 1991), as mais estudadas.

Outra técnica empregada no controle de fitonematóides é a solarização do solo (KATAN, 1981) que atua reduzindo as populações de nematóides através do aumento da temperatura. A solarização altera a composição da microbiota no solo selecionando organismos antagonistas e com maior capacidade de colonização das raízes e pode resultar no aumento do crescimento de plantas e indução de supressividade de patógenos (GREENBERGER et. al., 1987; STAPLETON & DEVAY 1984). Organismos como *Pseudomonas fluorescens* possuem maior eficiência no estabelecimento

no solo e na recolonização das raízes após a solarização (GAMLIEL & KATAN 1991), havendo assim uma explosão da densidade populacional dessas bactérias. Isso permite deduzir que após o aquecimento do solo, o ambiente se torna propício ao isolamento de rizobactérias antagonistas a fitonematóides.

Apesar de alguns bons resultados já obtidos e das boas perspectivas, é necessária a busca de novos métodos que sejam eficientes na obtenção de rizobactérias com grande potencial no controle de fitonematóides. Assim o presente trabalho teve os seguintes objetivos:

- a) Desenvolver métodos que aumentem a eficiência do isolamento de rizobactérias através do tratamento térmico do solo e da obtenção de bactérias nas raízes de plantas antagonistas a fitonematóides;
- b) Selecionar isolados mais promissores para o controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro;
- c) Avaliar *in vitro* a inibição da eclosão de juvenis de *M. javanica* pelos isolados;
- d) Avaliar o substrato onde se desenvolvem as raízes sobre o antagonismo das rizobactérias a *M. javanica*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A rizosfera é uma camada do solo que possui grande influência dos exsudatos radiculares, que podem inibir ou promover a atividade microbiana (CURL, 1982; SIQUEIRA & FRANCO, 1988; NEHL et al., 1996). Ela é considerada uma região relativamente rica, pois os exsudatos contêm nutrientes como aminoácidos, ácidos orgânicos, pentoses, hexoses, pirimidinas, purinas e vitaminas (ALEXANDER, 1977), importantes no desenvolvimento de microrganismos. As populações de bactérias encontradas na rizosfera são muito altas, cerca de 10^{10} a 10^{12} células por grama de solo (LAZAROVITS, 1997).

Dentre os microrganismos que habitam a rizosfera encontram-se as rizobactérias, que são definidas como aquelas que vivem livremente no solo e são capazes de colonizar as raízes na presença da microflora natural (SCHROTH & HANCOCK, 1982), incluindo os gêneros *Azobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia* e *Bacillus* (BROWN, 1974; ELMERICH, 1984; KLOEPPER et al., 1988, 1989; GLICK, 1995).

A interação entre bactérias e raízes de plantas pode ser benéfica, prejudicial ou neutra (SCHIPPERS et al., 1987). As rizobactérias podem ser benéficas por promover o crescimento das plantas e/ou por proteger contra fitopatógenos (KLOEPPER et al., 1990). As rizobactérias que são prejudiciais às plantas, chamadas DRMO “Deleterious Rhizosphere Microorganisms”,

colonizam as raízes e são consideradas patogênicas (SUSLOW & SCHROTH, 1982).

Segundo GLICK (1985) as PGPR podem promover o crescimento de plantas diretamente ou indiretamente. A promoção indireta do crescimento de plantas ocorre quando as PGPR reduzem ou previnem os efeitos deletérios de um ou mais organismos fitopatogênicos. A promoção direta ocorre devido a ação de compostos que são sintetizados pela bactéria ou quando facilitam a incorporação de certos nutrientes ao ambiente. Em vista disso, SIKORA (1988) concluiu que o termo mais correto para as rizobactérias seria PHPR “Plant Health Promoting Rhizobacteria”, ou seja, rizobactérias promotoras de saúde de plantas pois, segundo o autor, a grande maioria do estímulo de crescimento de plantas por PGPR é causado pela supressão de organismos fitopatogênicos existentes no solo, como nematóides, fungos, bactérias e outros organismos deletérios.

As rizobactérias utilizam vários mecanismos para sobreviver na rizosfera e suprimir o ataque de patógenos às plantas, podendo ocorrer mais de um mecanismo ao mesmo tempo (MELO, 1998). Além da vantagem de serem encontradas em grande quantidade no solo, as rizobactérias são cultivadas em meio de cultura, facilitando o uso em formulações comerciais (WELLER, 1988).

Os primeiros estudos que buscam controlar fitonematóides com rizobactérias foram realizados por ZAVALETA-MEJIA & VAN GUNDY (1982) e SCHROTH & HANCOCK (1982), utilizando o tratamento bacteriano das raízes de plantas. SIKORA (1988) realizou estudos utilizando a peletização de sementes. BECKER et al. (1988) comprovaram a eficiência do método utilizando a microbiolização de sementes com rizobactérias, resultando na redução do número de galhas causadas por *Meloidogyne incognita* em pepino.

Os gêneros mais comuns de rizobactérias que atuam no controle de nematóides são *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Streptomyces* e entre os gêneros de nematóides alvos das rizobactérias, encontram-se *Belonolaimus*, *Caenorhabditis*, *Criconemella*, *Globodera*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Panagrellus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus* e *Tylenchorhynchus* (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1999).

O grupo de novos biocidas, avermectinas (AVM), que são produzidos por *Streptomyces avermitilis* (BURG et al., 1979) mostra que outros organismos do solo, como as rizobactérias, produzem compostos com potencial semelhante para o controle de fitonematóides. CAYROL et al. (1993) estudaram o efeito de abamectina (precursor natural da avermectina B1) comercializada com o nome de Vertimec, sobre o *Meloidogyne arenaria* em tomateiro e observaram a inibição da eclosão de juvenis mesmo depois de 12 dias de incubação. Os autores verificaram ainda que juvenis expostos a baixas concentrações de AVM B1 (0,3mg/L) ficaram paralisados depois de 24 horas e que a aplicação no solo reduziu a penetração de juvenis nas raízes. *Rotylenchulus reniformis* e *Tylenchorynchus latus* tiveram suas populações reduzidas no campo pela adição de *Bacillus* sp., na cultura do algodoeiro, ao nível alcançado pelo uso do nematicida fenamifós. Já canteiros tratados com o actinomiceto *Streptomyces* sp. apresentaram maior produção e maior controle dos nematóides do que aqueles não tratados, porém menores do que no tratamento com *Bacillus* spp. (ANTER et al., 1995).

Diversos são os modos de ação das rizobactérias sobre os fitonematóides. A ação pode ocorrer tanto de forma direta, atuando sobre a eclosão de ovos e mobilidade dos nematóides como de forma indireta, atuando na indução de resistência sistêmica pela modificação dos exsudatos radiculares, cujos compostos possuem efeito sobre o estímulo, atração, penetração, eclosão e comportamento dos nematóides (HASKY-GÜNTHER et al., 1998; OOSTENDORP & SIKORA, 1990; SIKORA & HOFFMANN-HERGARTEN, 1992; OKA et al., 1993).

Bactérias da rizosfera de pessegueiro foram isoladas de solo supressivo ao nematóide *Crictonemella xenoplax*. Dos 290 isolados de *Pseudomonas fluorescens*, 2,4% suprimiram a multiplicação da população do nematóide em mais de 50% quando comparados ao solo não tratado (KLUEPFEL et al., 1993).

Nove isolados de *Pseudomonas* sp., um isolado de *Escherichia coli* e um isolado de *Rhizobium freudi* foram testados por WESTCOTT & KLUEPFEL (1993) quanto à capacidade de inibir a eclosão de juvenis do nematóide *Crictonemella xenoplax*. Somente os isolados de *P. aerofaciens* BG33 e BG33CL1R inibiram a eclosão em 95%, quando presentes na concentração de

$2,4 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia/mL. Os autores atribuíram o efeito sobre a eclosão como responsável pelo declínio da população do nematóide em casa de vegetação.

RACKE & SIKORA (1992a) observaram que 16 dos 179 isolados de raízes de batata e de cistos de *Globodera pallida* reduziram a penetração deste nematóide em batata, sendo que o emprego de *Agrobacterium radiobacter* e *Bacillus sphaericus* resultaram em 24% a 41% de redução de infecção de raízes. Em outro estudo, RACKE & SIKORA (1992b) comprovaram a eficiência destas bactérias em condições de campo quando inoculadas juntas ou isoladamente.

TIAN & RIGGS (2000) isolaram 201 bactérias do rizoplane e da rizosfera de plantas de soja e testaram sobre *Heterodera glycines* na formação do número de ovos do nematóide do cisto. Desses, 108 isolados não demonstraram influência sobre os cistos, ovos e juvenis de segundo estágio, 36 mostraram-se supressivos ao nematóide e 27 proporcionaram aumento no número de cistos e/ou ovos e de juvenis comparado com o controle.

O tratamento de tubérculos de batata com *Agrobacterium radiobacter* resultou em redução de 25% na penetração de *Globodera pallida*, o nematóide do cisto da batata, em estudos em casa de vegetação conduzido com solo não esterilizado. Reduções na infecção foram mais marcantes quando o solo foi mantido com umidade de 60% ou 90% da capacidade de campo. Além da penetração, *A. radiobacter* também reduziu a eclosão de juvenis *in vitro* em até 70% (HACKENBERG & SIKORA, 1994).

Algumas rizobactérias produzem enzimas e metabólitos tóxicos que são nematocidas e afetam o movimento do nematóide *in vitro*, enquanto outras inibem a eclosão de juvenis e o processo pelo qual eles penetram nas raízes (STIRLING, 1991; OKA et al., 1993). Avaliações *in vitro* foram realizadas por BECKER et. al. (1988) com testes em placas de microtítulos, onde mais de 5000 isolados de rizobactérias obtidos de diferentes plantas foram avaliados quanto à habilidade em produzir compostos que afetaram a motilidade de *M. incognita*. Cerca de 1% dos isolados produziu substâncias que causaram inibição completa ou parcial do movimento dos juvenis. Destes, 20% reduziram também o número de galhas em raízes de pepino.

HACKENBERG et al. (2000) avaliaram o antagonismo de *Pseudomonas chlororaphis* sobre *Pratylenchus penetrans*, o nematóide das lesões, em morangueiro. Após seis semanas o número de nematóides nas raízes tratadas foi reduzido em 47% e 42% nos dois experimentos realizados. Em outro estudo, o efeito de quatro isolados de *P. fluorescens* sobre os nematóides *Radopholus similis* e *Meloidogyne* spp. foi avaliado por AALTEN et al. (1998). Os autores observaram que todos os isolados de *P. fluorescens* reduziram tanto o nematóide *R. similis* quanto *Meloidogyne* spp. nas raízes de bananeira.

OOSTENDORP & SIKORA (1990) realizaram estudos *in vitro* para avaliar a influência de oito isolados de rizobactérias na eclosão, migração e penetração de *Heterodera schachtii*, o nematóide da beterraba-açucareira. Sete isolados reduziram o estímulo da eclosão, devido à degradação dos exsudatos radiculares pelas rizobactérias, e seis isolados reduziram a penetração dos juvenis nas raízes. Quanto a migração, não houve influência, comparado com o controle.

HOFFMANN-HERGARTEN et al. (1998) testaram diferentes rizobactérias no controle de *Meloidogyne incognita* em alface. Os isolados que apresentaram melhores resultados foram o W34 de *Pseudomonas* sp. e o VM1-32 de *Bacillus subtilis*, os quais reduziram o número de galhas significativamente de 63 % e 71% respectivamente, seguidos pelo S18 de *Bacillus cereus*, com 47%, e W24 de *Pseudomonas* sp., com 45% de redução, comparados com o controle.

Um dos métodos mais convenientes de introduzir um organismo no ambiente da raiz é através da aplicação deste nas sementes antes da semeadura (COOK & BAKER, 1983). O processo de germinação de semente libera carboidratos e aminoácidos em abundância na forma de exsudatos de semente (LYNCH 1978; SUBRAHMANYAM et al., 1983). Desta forma, estes organismos introduzidos com as sementes no solo utilizam estes exsudatos como fonte nutricional e colonizam as raízes assim que elas emergem (LUZ, 1993). De acordo com KLOEPPER et al. (1985), os isolados de rizobactérias com maior habilidade de utilizar exsudatos de sementes possuem vantagem competitiva na colonização de raízes.

Alguns pesquisadores acreditam que a quantidade de bactérias que colonizam a rizosfera independe da quantidade de inóculo inicial aplicado à semente, mas depende da fonte de substrato proveniente das raízes (BENNETT & LYNCH, 1981; KLOEPPER et al., 1985). A capacidade de a bactéria crescer e multiplicar na rizosfera tem sido chamada de “competência de rizosfera” (AHMAD & BAKER, 1987). Este atributo é influenciado por uma série de fatores, tais como a textura do solo, a percolação de células bacterianas através da água de chuva ou irrigação e a influência de fungos ou bactérias apresentando antibiose.

A eficiência do tratamento de sementes com rizobactérias foi verificada por OOSTENDORP & SIKORA et al. (1989). Os autores isolaram 290 culturas de rizobactérias da beterraba açucareira e trataram as sementes com os isolados bacterianos para conferir proteção às plantas contra o ataque de *Heterodera schachtii*, o nematóide do cisto da beterraba açucareira. Oito dos isolados testados mostraram-se ativos contra o nematóide, reduzindo a penetração em 75%. Desses oito, três eram *Pseudomonas fluorescens*.

Outros estudos sugerem que após a solarização o ambiente do solo se torna favorável ao desenvolvimento de rizobactérias. STAPLETON & DEVAY (1982) avaliando o efeito da solarização sobre a população de microrganismos, observaram que, após a solarização, *Bacillus* spp. e actinomicetes foram os menos afetados e que *Pseudomonas fluorescens* foi mais ágil na recolonização do solo. Também GAMLIEL & KATAN (1993) observaram que *P. fluorescens* apresentou maior habilidade de estabelecimento no solo após a solarização quando comparado com outros organismos, e que também houve um aumento na supressão de patógenos. Já GAMLIEL & STAPLETON (1993) observaram que a rizosfera de plantas de alface tiveram o número de *P. fluorescens* aumentado de 6 a 10 vezes mais do que na rizosfera de plantas em solo não solarizado. Em outro experimento, STAPLETON & DEVAY (1984) verificaram que raízes de beterraba-açucareira, após 12 semanas de crescimento, tinham a densidade populacional de PGPR 4,7 vezes maior após a solarização.

Além das rizobactérias, outro grupo de bactérias que já demonstrou efeito sobre os fitonematóides são as bactérias endofíticas, definidas por KLOEPPER et al. (1992b) como as colonizadoras do interior das raízes, promotoras de bioproteção contra organismos patogênicos. HALLMANN et. al.

(1997) estudaram, em casa de vegetação, o efeito antagonista de 72 isolados de rizobactérias endofíticas a *M. incognita* em pepino. Sete isolados, *Aerococcus viridans*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Pseudomonas chlororaphis*, *P. vesiculares*, *Serratia marcescens* e *Sphingomonas paucimobolis* reduziram, em mais de 50%, a infecção pelo nematóide em relação ao controle.

A ocorrência de rizobactérias em maior proporção em rizosfera de plantas antagonistas com potencial para o controle de fitonematóides é um conhecimento relativamente novo e abre novas perspectivas para encontrar isolados e espécies em maior número e com maior eficiência do que em plantas hospedeiras de interesse econômico. KLOEPPER et al. (1991) caracterizaram microorganismos da rizosfera das espécies de *Mucuna deeringiana*, *Ricinus communis*, *Canavalia ensiformis* e *Secale cereale* e de soja. Os autores observaram que um grupo específico de microrganismos tornou-se adaptado à rizosfera das plantas com propriedades antagonistas aos fitonematóides. Em outro experimento, KLOEPPER et al. (1992a), visando ao controle do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, e de *M. incognita*, avaliaram as populações bacterianas encontradas nas rizosferas dessas plantas antagonistas e de soja a esses nematóides. A identificação dos isolados da rizosfera de soja revelou predominância do gênero *Bacillus* spp. e de bactérias corineformes e nas de plantas antagonistas predominaram as bactérias gram-negativas *P. cepacia* e *P. gladioli*, que não foram isoladas das plantas de soja. O número de isolados que exibiram atividade antagonística aos nematóides de cistos e de galhas foi maior entre aqueles provenientes das plantas antagonistas do que da soja. Entretanto, apenas 10% rizobactérias isoladas proporcionaram algum controle dos nematóides no solo (SCHROTH & HANCOCK, 1981; 1982; WELLER & COOK, 1986; SIKORA, 1988) o que demanda teste de seleção massal com grande número de isolados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido na casa de vegetação da Nematologia do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

3.1. Multiplicação do inóculo de *Meloidogyne javanica*

As populações do nematóide das galhas, *M. javanica*, foram multiplicadas em plantas de tomateiro Santa Cruz 'Kada' plantadas em vasos com solo previamente tratado com brometo de metila. Os ovos usados nos experimentos foram extraídos das raízes utilizando-se a técnica de HUSSEY & BARKER (1973), modificada por BONETI & FERRAZ (1981). As suspensões de ovos foram calibradas com auxílio de câmara de Peters, utilizando microscópio estereoscópio, de acordo com as exigências de cada experimento. Cortes perineais foram realizados periodicamente, para certificação da pureza da população de *Meloidogyne javanica*.

3.2 Obtenção dos isolados bacterianos

3.2.1. Obtenção do solo

Utilizou-se solo de mata, previamente espalhado sobre folhas de jornal em bancada na casa de vegetação por 15 dias para secagem.

3.2.2. Tratamento térmico do solo

Dez quilogramas de solo de terriço de mata foram submetidos duas vezes a autoclavagem (120⁰C/1 h) e 10 kg foram submetidos ao tratamento em forno microondas 660 W a 2450 Hz no máximo em lotes de 1 Kg de solo em saco plástico aberto, durante 4 min. O tratamento testemunha não foi submetido a nenhum tratamento térmico.

3.2.3. Preparo do solo para isolamento das bactérias

Lycopersicon esculentum, *Mucuna aterrima*, *Crotalaria juncea* e *Tagetes erecta* foram semeadas em campo e no período de floração, foram arrancadas do solo e seus sistemas radiculares foram colhidos. O excesso de solo aderido aos sistemas radiculares foi retirado e 60 g de raízes de cada espécie foram fragmentados em pedaços de 1 a 2 cm e triturados em 1L de água de torneira, em liquidificador em baixa velocidade durante 30 seg. Os homogeneizados foram passados em peneira com malha de 1 mm e foram adicionados, separadamente, a 6 kg de solo de cada tratamento térmico (microondas, autoclave ou não tratado) e posteriormente acondicionados em sacos plásticos. Apenas água foi adicionada como tratamento-testemunha nos solos submetidos aos tratamentos térmicos e não tratado. Os sacos foram mantidos durante 24 h em incubadora a 28°C.

Após a incubação, frações de cada solo tratado foram utilizadas para isolamento das bactérias e o restante do solo foi utilizado como substrato em um bioteste para avaliar possível efeito supressivo ao nematóide.

Os tratamentos resultantes foram as seguintes combinações de solo tratado: 1) *T. erecta*-solo natural, 2) *T. erecta*-solo irradiado, 3) *T. erecta*-solo autoclavado; 4) *C. juncea*-solo natural, 5) *C. juncea*-solo irradiado, 6) *C. juncea*-solo autoclavado; 7) *M. aterrima*-solo natural, 8) *M. aterrima*-solo irradiado, 9) *M. aterrima*-solo autoclavado 10) *L. esculentum*-solo natural, 11) *L. esculentum*-solo irradiado, 12) *L. esculentum*-solo autoclavado; 13) água-solo natural, 14) água-solo irradiado, 15) água-solo autoclavado.

3.2.4. Isolamentos das rizobactérias

O método adotado foi o de diluição em placas de petri conforme descrito por ROMEIRO (2001). Dez gramas da mistura de solo de cada tratamento foram adicionados em 100 mL de solução salina (NaCl 0,85%). As amostras foram preparadas e mantidas sobre agitação vigorosa por 30 min em temperatura ambiente. Após a agitação, cada suspensão foi filtrada e centrifugada por 20 min a 1390 G. O sedimento foi descartado e o sobrenadante foi submetido a uma nova centrifugação por 15 min a 15.000 G. O sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspendido em 2 mL de solução salina. Uma diluição serial de 10^{-4} a 10^{-9} foi feita a partir desta suspensão. Uma alíquota de 50 μ L de cada diluição foi depositada e espalhada com espátula de Drigalsky em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo o meio 523 de KADO & HESKETT (1970). As placas foram mantidas durante 24 h em incubadora a 28°C. As colônias que surgiram foram repicadas para tubos de ensaio contendo o meio 523 e estes foram levados para incubadora com a mesma temperatura e pelo mesmo tempo.

3.3. Avaliação do potencial antagonístico dos isolados obtidos sobre *Meloidogyne javanica*

3.3.1. Bioteste com solo tratado termicamente e com suspensões bacterianas

O bioteste foi realizado em casa de vegetação para a avaliação do efeito das rizobactérias recolonizadoras sobre o nematóide *M. javanica*.

Utilizaram-se solos dos 15 tratamentos obtidos como descrito no item 3.2.3, com seis repetições por tratamento, delineamento inteiramente casualizados.

Mudas de tomateiro Santa Cruz 'Kada', com aproximadamente 10 cm de altura foram plantadas em copos plásticos com capacidade para 400 mL contendo 300 g do substrato tratado. Um dia após o transplântio, com auxílio de uma pipeta automática, o solo foi infestado com 2 mL de uma suspensão contendo 1000 ovos de *M. javanica*. Após 60 dias, as plantas foram coletadas e avaliadas quanto ao peso de parte aérea, altura e ao número de galhas e de ovos por sistema radicular. Os ovos foram extraídos utilizando a técnica de HUSSEY & BARKER (1973), modificada para agitação manual em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% durante 2 min. Posteriormente essas foram mantidas em geladeira a 4°C até o momento da contagem das galhas.

3.3.2. Seleção massal dos isolados bacterianos

Misturou-se solo de mata com substrato organovegetal (Plantagro®), na proporção 1:1 (v:v). A mistura foi colocada em tubetes e irrigada até a capacidade de campo. Sementes de tomateiro Santa Cruz 'Kada' foram microbiolizadas utilizando o método descrito por OOSTENDORP & SIKORA (1989), modificado de 15 min para 24 h. As sementes foram imersas em suspensões aquosas dos isolados bacterianos e mantidas em temperatura ambiente no laboratório. Para o tratamento testemunha, as sementes permaneceram em água destilada. As sementes microbiolizadas e as da testemunha foram semeadas, três por tubete, e, após 10 dias, foi feito o

desbaste deixando-se apenas uma planta por tubete. Após 28 dias da germinação, quando as plantas estavam com aproximadamente 10 cm de altura, 2 mL da suspensão de ovos de *M. javanica* contendo 400 ovos foram depositados no substrato de cada tubete. Semanalmente as plantas foram adubadas com adubo 15-15-20 contendo macro e micronutrientes (Ouro Verde®). As avaliações foram iniciadas após 60 dias com a retirada das plantas. Foram avaliados peso da parte aérea, altura das plantas e o número de ovos e de galhas por sistema radicular. O método de extração de ovos utilizado foi o mesmo descrito no item 3.3.1. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento.

3.3.3. Reavaliação das bactérias com potencial antagonístico a *Meloidogyne javanica* a partir da seleção massal

Dez isolados que ocasionaram menor número de galhas e de ovos e três isolados três que proporcionaram aumento do número de ovos e de galhas no experimento de seleção massal foram reavaliados em casa de vegetação. O experimento foi realizado em copos plásticos com capacidade para 400 mL contendo 300 g de uma mistura de solo de barranco e areia (1:1), ambos previamente tratados com brometo de metila. A microbiolização das sementes foi realizada da mesma forma descrita no item 3.3.2. Três sementes foram semeadas por copo. Após a germinação realizou-se o desbaste deixando apenas uma plântula. Após 15 dias, o solo foi infestado com 2 mL de uma suspensão contendo 1000 ovos de *M. javanica*, usando-se uma pipeta automática. Semanalmente foram realizadas adubações com adubo 15-15-20 com micronutrientes e macronutrientes (Ouro Verde®) uma vez por semana. As seguintes variáveis foram avaliadas ao final de 45 dias: peso da parte aérea e altura das plantas, número de galhas e o de ovos por sistema radicular. Os ovos foram extraídos utilizando a mesma técnica do item 3.3.2. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições por tratamentos.

3.3.4. Avaliação do efeito do substrato onde se desenvolve a raiz sobre o antagonismo de rizobactérias a *M. javanica*

Neste experimento utilizaram-se dois tipos de solo (terriço de mata e solo de barranco) ambos previamente tratados com brometo de metila e dois isolados que se mostraram eficientes na seleção massal (UFV-8 e UFV-57). O solo de mata foi seco durante 15 dias e misturado com substrato organo-vegetal (1:1). O solo de barranco foi misturado com areia (1:1). Os solos foram colocados em tubetes e estes receberam três sementes microbiolizadas cada. A microbiolização foi realizada utilizando-se o mesmo método do item 3.3.2. Como testemunha as sementes foram colocadas em água esterelizada. Após a germinação foi feito o desbaste deixando-se somente uma plântula por tubete. Quando as plantas atingiram aproximadamente 10 cm, o solo foi infestado com 2 mL de uma suspensão contendo 200 ovos/mL de *M. javanica*. Ao final de 22 dias, as plantas foram retiradas e as variáveis (1) altura e peso da parte aérea e (2) número de galhas por sistema radicular foram avaliadas.

3.3.5. Avaliação dos isolados bacterianos sobre a eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*

Para medir a inibição de eclosão dos juvenis *in vitro* pelos isolados, foram comparadas as dez rizobactérias mais promissoras e as dez que proporcionaram aumento do número de ovos e galhas ou não apresentaram efeito nos testes em casa de vegetação. Aproximadamente 50 ovos de *M. javanica* em 50 µL de água e 20 µL de suspensão aquosa de rizobactérias, ajustada em uma OD₅₄₀ = 0,1, foram depositados em cada célula de uma placa de ELISA. Como testemunha apenas água foi adicionada. Os ovos foram incubados com rizobactérias por 15 dias em temperatura ambiente (18-25°C), sobre bancada em laboratório, em condições de câmara úmida. O número de juvenis eclodidos foram avaliados após o terceiro, o sexto, o nono, o décimo segundo e o décimo quinto dia. O experimento constou de 21 tratamentos e oito repetições. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

3.4. Procedimento estatístico

Os dados do item 3.3.1 e 3.3.5 foram analisados utilizando-se o programa SAS, procedimento GLM (SAS, 1989). A análise foi desenvolvida em esquema fatorial, em delineamento inteiramente casualizado. Antes, realizou-se o teste de normalidade com o procedimento UNIVARIATE, aplicando-se a estatística W de Shapiro-Wilks. Somente a variável número de ovos apresentou desvios de normalidade e para sua normalização utilizou-se a função logarítmica. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os itens 3.3.2 e 3.3.3, os dados foram analisados utilizando-se o programa SAEG (EUCLYDES, 1983). Para o item 3.3.2 transformou-se a variável número de ovos utilizando-se a função logarítmica. As médias dos tratamentos, para dados de ambos os itens foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Isolados obtidos

Das combinações de solos submetidos aos tratamentos térmicos ou não com homogeneizado de plantas antagonistas foram obtidos 78 isolados, que foram nomeados UFV-1 a UFV-78 (Quadro 1). O maior número de isolados proveio de tratamento térmico de solo em autoclave e acrescido de água (8 isolados) e o menor número, do solo que não foi submetido a tratamento térmico acrescido do homogeneizado de raízes de plantas de *Crotalaria juncea* e tratamento térmico do solo em autoclave acrescido do homogeneizado de raízes de *Tagetes erecta* (ambos com 3 isolados) (Quadro 1). Embora alguns tratamentos tenham proporcionado um número maior de isolados do que outros, isolados de rizobactérias foram obtidos de solos de todos os tratamentos.

4.2. Bioteste com solo tratado termicamente e com as suspensões bacterianas

Não se observaram diferenças estatísticas significativas entre as médias dos tratamentos com diferentes homogeneizados de raízes de plantas antagonistas. Também não se observou interação entre as médias dos

Quadro 1 - Isolados obtidos de solo submetidos a tratamentos térmicos e homogeneizado de raízes

Espécie Vegetal	Tratamento Térmico	Isolados
<i>Tagetes erecta</i>	Não tratado	UFV-28, UFV-29, UFV-34 UFV-41, UFV-57, UFV-62, UFV-75
<i>Tagetes erecta</i>	Irradiado	UFV-2, UFV-6, UFV-33, UFV-42
<i>Tagetes erecta</i>	Autoclave	UFV-50, UFV-66, UFV-68
<i>Crotalaria juncea</i>	Não tratado	UFV-1, UFV-16, UFV-65
<i>Crotalaria juncea</i>	Irradiado	UFV-9, UFV-14, UFV-24, UFV-64, UFV-69, UFV-77
<i>Crotalaria juncea</i>	Autoclave	UFV-3, UFV-5, UFV-11, UFV-37, UFV-40, UFV-60, UFV-61
<i>Mucuna aterrima</i>	Não tratado	UFV-17, UFV-27, UFV-30, UFV-59
<i>Mucuna aterrima</i>	Irradiado	UFV-8, UFV-25, UFV-32, UFV-53
<i>Mucuna aterrima</i>	Autoclave	UFV-15, UFV-45, UFV-54, UFV-63, UFV-67
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Não tratado	UFV-7, UFV-43, UFV-48, UFV-56, UFV-76
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Irradiado	UFV-22, UFV-23, UFV-49, UFV-52, UFV-58, UFV-74
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Autoclave	UFV-13, UFV-35, UFV-44, UFV-18, UFV-73
Testemunha (água)	Não tratado	UFV-10, UFV-39, UFV-47, UFV-51, UFV-70
Testemunha (água)	Irradiado	UFV-19, UFV-31, UFV-46, UFV-71, UFV-72, UFV-78
Testemunha (água)	Autoclave	UFV-4, UFV-12, UFV-20, UFV-21, UFV-26, UFV-36, UFV-38, UFV-55

tratamentos com diferentes homogêneos de raízes e de solos submetidos a tratamentos térmicos (apêndice 1). Para tratamento térmico do solo em microondas, o número de galhas, ovos e o peso da parte aérea foram significativamente maiores do que nos tratamentos térmicos do solo em autoclave ou controle (Quadro 2).

O fato de não se observar biocontrole de *M. javanica* após a adição dos homogêneos de raízes submetidos a tratamentos térmicos ou não, indica que possivelmente as populações bacterianas introduzidas entraram em equilíbrio, não havendo predominância no solo das rizobactérias benéficas sobre as neutras ou deletérias, por consequência não gerando supressividade.

Para ocorrer antagonismo é necessário que as rizobactérias se estabeleçam e predominem sobre outros microorganismos. Segundo SIKORA & HOFFMANN-HERGARTEN (1992) o nível de controle biológico é influenciado por inúmeros fatores, especialmente pela densidade microbiana na rizosfera, no decorrer do tempo.

Outro fator que deve ser considerado é a habilidade de as bactérias se estabelecerem na rizosfera e na sua capacidade de sobrevivência. Estudos mostram que organismos aplicados via sementes são mais ágeis na colonização das raízes, fator importante para o sucesso do controle biológico. Tanto assim que, de acordo com os autores BURR et al. (1978) KLOPPER & SHOROTH (1979) e WELLER & COOK (1983), isolados de *Pseudomonas* são mais eficientes no controle de patógeno de raízes e mais agressivos na colonização das raízes, quando aplicados nas sementes antes do plantio. A aplicação em sementes dá vantagem competitiva ao antagonista, pois essas liberam exsudatos que são fontes de nutrientes para as rizobactérias. Segundo COOK & BAKER (1983), o antagonista necessita de uma fonte de nutriente essencial (nitrogênio, ferro e carbono) para ser eficaz no controle de patógenos. O fato de as bactérias serem retiradas do seu habitat e introduzidas em outro ambiente, diretamente no solo, pode ter dificultado o estabelecimento dos isolados devido à competição com outros organismos pelo mesmo nicho.

Quadro 2 - Médias obtidas de solos submetidos a tratamentos térmicos e regados com homogeneizados de raízes de plantas antagonistas, no controle de *M. javanica*

Características		T.e	L.e	C.j	M.a	Água	MÉDIAS
ALT	TT1	81,50	71,67	67,90	74,16	82,08	75,72 a
	TT2	70,67	79,00	70,83	79,00	73,50	74,28 a
	NT	67,92	79,50	78,50	76,00	75,83	75,53 a
	MÉDIAS	73,36 A	76,44 A	72,68 A	76,41 A	77,14 A	74,19
PPA	TT1	50,41	55,51	50,07	46,06	53,16	51,07 b
	TT2	58,00	58,85	59,99	59,62	54,88	58,23 a
	NT	53,24	51,37	52,87	50,30	50,63	51,72 b
	MÉDIAS	53,88 A	54,79 A	54,56 A	52,09 A	52,89 A	53,63
NGA	TT1	148,16	222,50	235,00	188,00	260,66	210,03 b
	TT2	302,83	328,25	319,50	324,00	282,00	310,10 a
	NT	154,66	131,83	190,83	139,40	150,00	153,82 c
	MÉDIAS	201,88 A	214,93 A	249,23 A	221,70 A	230,88 A	223,67
NOT*	TT1	4,60	4,65	4,74	4,39	4,78	4,63 b
	TT2	4,84	4,67	4,90	4,94	4,69	4,82 a
	NT	4,61	4,43	4,75	4,49	4,38	4,53 b
	MÉDIAS	4,68 A	4,57 A	4,80 A	4,61 A	4,61 A	4,66

*Dados transformados usando a função logarítmica aplicada aos dados originais. Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e de letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

T.a = *Tagetes erecta*; L.e = *Lycopersicon esculentum*; C.j = *Crotalaria juncea*; P4 = *Mucuna aterrima*; TT1 = Autoclave; T2 = Microondas; NT= Não tratado; ALT = altura das plantas (cm); PPA = Peso da parte aérea (g); NGA = Número de galhas; NOT = Número de ovos.

4.3. Seleção massal dos isolados bacterianos

Dos 78 isolados testados, 57 reduziram o número de galhas e 22 não apresentaram diferença significativa em relação ao controle. Quanto ao número de ovos, 26 resultaram em redução, 44 não diferiram do controle e 9 isolados estimularam o seu aumento (Quadro 3).

Para “galhas”, o isolado UFV-6 foi o mais eficiente de todos, com 80% menos galhas do que o controle (Figura 1). Para “ovos”, o melhor isolado foi o UFV-8, com redução de 83%. (Figura 2). Os isolados UFV-48 e UFV-29 foram os mais deletérios, permitindo o aumento do número de ovos em 134,3% e 117,78%, respectivamente.

Ambos os isolados promissores foram provenientes do tratamento térmico do solo em microondas e do homogeneizado de raízes de *T. erecta* e de *M. aterrima* respectivamente. Estas plantas são consideradas efetivas no controle de fitonematóides (RICKARD & DUPREE, 1978; SHARMA et al., 1982; FERRAZ et al., 1977).

Segundo SIKORA (1988,1991) e WELLER (1988) o número de rizobactérias isoladas da rizosfera com potencial para o controle de fitonematóides encontra-se em torno de 9% a 10% da população. Neste experimento, o número de isolados com potencial antagonista a *M. javanica* foi bem superior, sendo que 72% reduziram o número de galhas e 33% reduziram o número de ovos. Contudo, são resultados de seleção massal e que estão sujeitos a muitas variações. De acordo com os resultados, a rizosfera de plantas antagonistas parece ser uma boa fonte de microrganismos com potencial de controle de fitonematóides. Estudos da rizosfera de plantas antagonistas também foram realizados por KLOEPPER et al. (1991,1992a), que observaram que o número de isolados eficientes no controle dos fitonematóides foi de 4 a 6 vezes maior entre aqueles provenientes das plantas antagonistas do que de soja, que é a espécie suscetível.

O tratamento do solo em microondas é um método de aquecimento artificial que resulta em temperaturas semelhantes às da solarização, porém o aquecimento por solarização requer exposição prolongada, isto é, por várias horas por dia e durante seis a oito semanas. O efeito desse tipo de radiação

Quadro 3 - Resultados da avaliação dos isolados de rizobactérias na formação de galhas e de ovos de *M. javanica*

Isolados	Métodos de obtenção	Médias		
		Ovos	Log (ovos)	Galhas
UFV-28	Não tratado + <i>T. erecta</i>	8899	3,91b	83,60 b
UFV-29	Não tratado + <i>T. erecta</i>	27145	4,17b	192,50 a
UFV-41	Não tratado + <i>T. erecta</i>	3773	3,50c	40,50 b
UFV-57	Não tratado + <i>T. erecta</i>	2320	3,12c	52,20 b
UFV-62	Não tratado + <i>T. erecta</i>	6541	3,69b	77,33 b
UFV-75	Não tratado + <i>T. erecta</i>	9612	3,88b	98,33 a
UFV-34	Não tratado + <i>T. erecta</i>	7456	3,81b	98,16 a
UFV-2	Microondas + <i>T. erecta</i>	4527	3,59c	69,66 b
UFV-6	Microondas + <i>T. erecta</i>	2120	3,21c	25,6 b
UFV-33	Microondas + <i>T. erecta</i>	12987	3,95b	146,83 a
UFV-42	Microondas + <i>T. erecta</i>	6377	3,76b	70,50 b
UFV-50	Autoclave + <i>T. erecta</i>	15037	4,02a	141,00 a
UFV-66	Autoclave + <i>T. erecta</i>	5235	3,69b	76,00 b
UFV-68	Autoclave + <i>T. erecta</i>	7888	3,79b	102,33 a
UFV-1	Não tratado + <i>C. juncea</i>	3842	3,56c	80,50b
UFV-16	Não tratado + <i>C. juncea</i>	10068	3,87b	75,50 b
UFV-65	Não tratado + <i>C. juncea</i>	7956	3,83b	76,33 b
UFV-9	Microondas + <i>C. juncea</i>	2570	3,12c	75,00 b
UFV-14	Microondas + <i>C. juncea</i>	11240	3,94b	113,00 a
UFV-24	Microondas + <i>C. juncea</i>	3850	3,50c	77,50 b
UFV-64	Microondas + <i>C. juncea</i>	6558	3,74b	89,66 b
UFV-69	Microondas + <i>C. juncea</i>	8520	3,86b	91,16 b
UFV-77	Microondas + <i>C. juncea</i>	38393	3,82b	109,50 a
UFV-3	Autoclave + <i>C. juncea</i>	4801	3,66b	78,50 b
UFV-5	Autoclave + <i>C. juncea</i>	5107	3,48c	64,66 b
UFV-11	Autoclave + <i>C. juncea</i>	3809	3,52c	114,00 a
UFV-37	Autoclave + <i>C. juncea</i>	12064	3,92b	164,33 a
UFV-40	Autoclave + <i>C. juncea</i>	6708	3,71b	47,50 b
UFV-60	Autoclave + <i>C. juncea</i>	3571	3,38c	90,66 b
UFV-61	Autoclave + <i>C. juncea</i>	5667	3,71b	79,83 b

Quadro 3, Cont.

Isolados	Métodos de obtenção	Médias		
		Ovos	Log (ovos)	Galhas
UFV-17	Não tratado + <i>M. aterrima</i>	9933	3,90b	92,16 b
UFV-27	Não tratado + <i>M. aterrima</i>	3087	3,35b	73,20 b
UFV-30	Não tratado + <i>M. aterrima</i>	15729	4,02a	124,20 a
UFV-59	Não tratado + <i>M. aterrima</i>	5129	3,65b	82,33 b
UFV-8	Microondas + <i>M. aterrima</i>	2021	3,24c	54,33 b
UFV-25	Microondas + <i>M. aterrima</i>	3145	3,40c	66,33 b
UFV-32	Microondas + <i>M. aterrima</i>	16621	4,19a	130,00 a
UFV-53	Microondas + <i>M. aterrima</i>	4516	3,55c	63,00 b
UFV-15	Autoclave + <i>M. aterrima</i>	8568	3,85b	122,83 a
UFV-45	Autoclave + <i>M. aterrima</i>	19822	4,23a	126,16 a
UFV-54	Autoclave + <i>M. aterrima</i>	6565	3,77b	106,00 a
UFV-63	Autoclave + <i>M. aterrima</i>	7456	3,72b	100,00 a
UFV-67	Autoclave + <i>M. aterrima</i>	9432	3,91b	83,00 b
UFV-7	Não tratado + <i>L. esculentum</i>	2068	3,29c	65,33 b
UFV-43	Não tratado + <i>L. esculentum</i>	5708	3,56c	71,16 b
UFV-48	Não tratado + <i>L. esculentum</i>	27145	4,27a	146,33 a
UFV-56	Não tratado + <i>L. esculentum</i>	6014	3,72b	114,20 a
UFV-76	Não tratado + <i>L. esculentum</i>	7475	3,79b	77,33 b
UFV-22	Microondas + <i>L. esculentum</i>	4880	3,49c	61,33 b
UFV-23	Microondas + <i>L. esculentum</i>	3881	3,55c	87,00 b
UFV-49	Microondas + <i>L. esculentum</i>	11178	3,98b	107,80 a
UFV-52	Microondas + <i>L. esculentum</i>	6888	3,76b	84,33 b
UFV-58	Microondas + <i>L. esculentum</i>	3167	3,37c	97,00 b
UFV-74	Microondas + <i>L. esculentum</i>	5965	3,65b	76,33 b
UFV-13	Autoclave + <i>L. esculentum</i>	9794	3,88b	133,50 a
UFV-35	Autoclave + <i>L. esculentum</i>	6552	3,68b	58,66 b
UFV-44	Autoclave + <i>L. esculentum</i>	5090	3,67b	63,00 b
UFV-18	Autoclave + <i>L. esculentum</i>	5237	3,71b	86,83 b
UFV-73	Autoclave + <i>L. esculentum</i>	10793	3,94b	110,33 a
UFV-10	Não tratado + Água	8757	3,68b	95,50 b

Quadro 3, Cont.

Isolados	Métodos de obtenção	Médias		
		Ovos	Log (ovos)	Galhas
UFV-39	Não tratado + Água	5108	3,67b	58,16 b
UFV-47	Não tratado + Água	20370	4,24a	126,83 a
UFV-51	Não tratado + Água	8089	3,85b	97,66 b
UFV-70	Não tratado + Água	7673	3,83b	85,83 b
UFV-19	Microondas + Água	5015	3,69b	64,50 b
UFV-31	Microondas + Água	17110	4,14a	150,40 a
UFV-46	Microondas + Água	11585	3,90b	117,16 a
UFV-71	Microondas + Água	8091	3,87a	115,16 a
UFV-72	Microondas + Água	6393	3,76b	64,50 b
UFV-78	Microondas + Água	10457	3,79b	95,50 b
UFV-4	Autoclave + Água	4112	3,49c	80,33 b
UFV-12	Autoclave + Água	2533	3,37c	90,50 b
UFV-20	Autoclave + Água	2909	3,49c	60,25 b
UFV-21	Autoclave + Água	5024	3,60c	62,00 b
UFV-26	Autoclave + Água	2723	3,35c	54,60 b
UFV-36	Autoclave + Água	5620	3,35b	84,16 b
UFV-38	Autoclave + Água	4415	3,62c	88,83 b
UFV-55	Autoclave + Água	3144	3,31c	88,00 b
Controle não microbiolizado	Não tratado + Água	11586	3,93b	126,33 a

*Dados transformados usando a função logarítmica aplicada aos dados originais.

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Médias de 6 repetições.

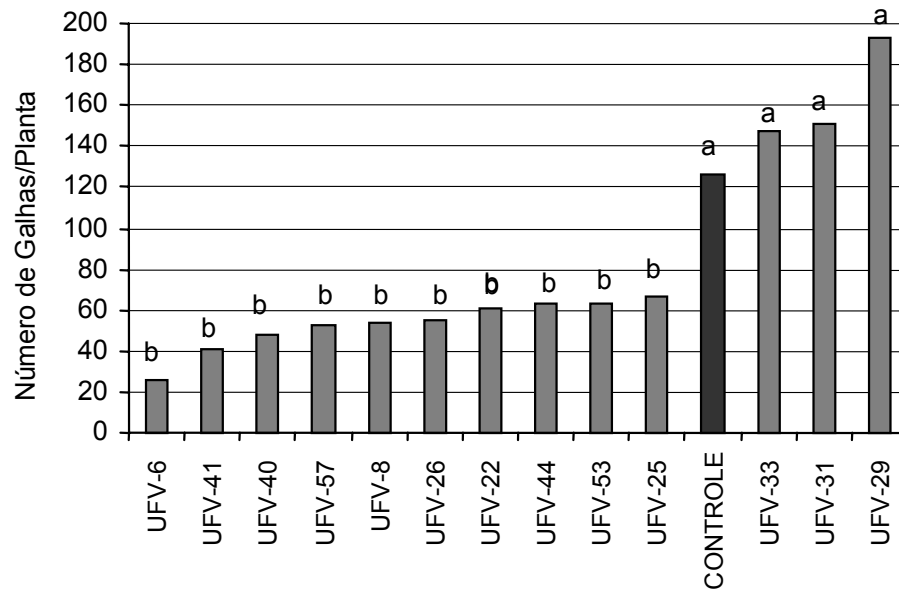
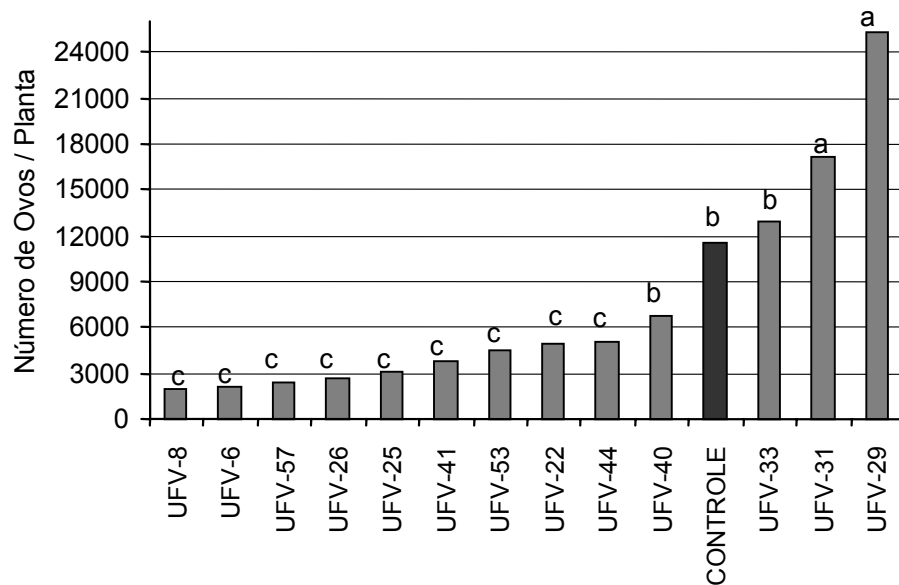


Figura 1 - Médias de dez isolados promissores e três deletérios na formação de galhas por *M. javanica*.



OBS: Médias extraídas de 79 tratamentos do quadro 3 onde foram comparados entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 2 - Médias de dez isolados promissores e três deletérios na formação de ovos por *M. javanica*.

sobre os microrganismos varia de acordo com a umidade do solo, quantidade de solo e o tempo de exposição (FERRIS, 1984; CHEN et al., 1995). Efeitos do tratamento térmico por microondas foram observados por CHEN et al. (1995), que compararam os tratamentos de solo com microondas, autoclave ou formalina. O tratamento térmico em microondas de 1 Kg de solo por 4 min reduziu as populações de fungos e bactérias no solo, porém não eliminou todos os organismos. Os autores concluíram que entre os métodos testados o tratamento do solo em microondas pode ser o mais eficiente para investigações da densidade populacional de fungos antagonistas a fitonematóides.

No presente trabalho, observou-se que isolados bacterianos que produziram pigmentos fluorescentes também proporcionaram a redução do número de ovos e de galhas, como o UFV-22 e UFV-26. Esses isolados provieram de solo que receberam homogeneizado de *L. esculentum* e tratamento térmico em microondas, e de solo que receberam apenas água antes da autoclavagem, respectivamente. Do grupo das rizobactérias, espécies fluorescentes do gênero *Pseudomonas* são consideradas as mais agressivas na colonização de solos submetidos a tratamentos térmicos. GAMLIEL & KATAN (1991) observaram que a colonização de patógenos e a incidência de doenças foram reduzidas por *P. fluorescens* presente em solos solarizados. O tratamento do solo com vapor, calor ou fumigação forma um vácuo biológico, e os primeiros organismos a recolonizar o solo possuem alta capacidade saprofítica (COOK & BAKER, 1983), assim como *Pseudomonas* spp. que são umas das primeiras bactérias a recolonizar o solo. Em outro estudo GAMLIEL & KATAN (1991) observaram que *P. fluorescens* possui grande habilidade de se estabelecer e colonizar solos solarizados. Os autores relataram que, após a solarização, a rizosfera das plantas de tomate apresentou populações da bactéria 130 vezes maiores do que o tratamento não solarizado. Dentre os métodos para a obtenção de rizobactérias, o aquecimento do solo pode ser mais uma alternativa para a obtenção de isolados promissores no controle de *M. javanica*.

Neste estudo, também foram encontrados microrganismos possivelmente capazes de estimular a infecção do tomateiro pelo nematóide. Os isolados UFV-29, oriundo do homogeneizado de raízes de *T. erecta* e de solo não submetido a tratamento térmico, e UFV-32, de *M. aterrima* e solo

submetido a irradiação em microondas, proporcionaram aumento do número de ovos de *M. javanica*. Observa-se que nem todas as bactérias provenientes de homogeneizados de raízes de plantas antagonistas e solos submetidos a tratamentos térmicos terão efeitos benéficos no controle do patógeno, pois na rizosfera dessas plantas, assim como nas de não antagonistas, encontram-se microorganismos benéficos, neutros e prejudiciais. Outros pesquisadores encontraram bactérias na rizosfera de plantas não antagonistas que foram eficientes e algumas que foram prejudiciais no biocontrole de fitonematóides. OOSTENDORP & SIKORA (1989) isolaram 290 rizobactérias da beterraba açucareira e testaram seu efeito contra *Heterodera schachtii*; dessas, 21 reduziram o número de nematóides e 15 estimularam a infecção por eles. RACKE & SIKORA (1986) também encontraram níveis similares de antagonismo a *Globodera pallida*; das 179 rizobactérias isoladas de batata, 9% reduziram a infecção e 7% a estimularam.

Quarenta e quatro desses isolados estimularam o crescimento das plantas, tendo sido comparadas as alturas com a do controle, embora não tenha sido verificada relação entre os isolados que foram eficientes como agentes de biocontrole e a indução de crescimento. Isolados que proporcionaram aumento no número de galhas e de ovos estimularam o desenvolvimento das plantas e isolados que atuaram como bons antagonistas não tiveram efeito na altura das plantas. A indução de crescimento (KLOEPPER et al., 1990) pode ser outro mecanismo de atuação das rizobactérias, a fazem diretamente ou indiretamente (GLICK, 1995). A promoção indireta do crescimento de plantas ocorre quando as rizobactérias reduzem ou previnem os efeitos deletérios de um ou mais organismos fitopatogênicos (BURR & CAESAR, 1985; SCHIPPEERS, 1988; WELLER, 1988) esses efeitos podem ser atribuídos pela competição de substrato, exclusão de nicho, produção de antibióticos e sideróforos (SUSLOW, 1982; SUSLOW & SCHROTH, 1982; BUYER & LEONG, 1986; KLOEPPER et al., 1980). A competição por substrato e exclusão de nicho são importantes mecanismos de supressão de patógenos. Esses mecanismos envolvem a disputa por nutrientes essenciais (PAULITZ, 1990) e a disputa por espaço tanto na rizosfera como na esfermosfera (LUZ, 1996, CHET et al., 1990). A produção de ácido cianídrico (HCN), com propriedades inibidoras de

patógenos, pode ser realizada por várias PGPR. Disso é exemplo *P. fluorescens* (AHL et al., 1986; STURTZ et al., 1986). A produção de antibióticos talvez seja o principal modo de atuação das rizobactérias na bioproteção de plantas (LUZ, 1991). Isolados de *Bacillus subtilis* produzem antibióticos que inibem vários fungos e bactérias (DUNIEAVY, 1955; LANDY, et al, 1948; MICHENER & SMELL, 1949). Fenazina-1-carboxilato é um antibiótico produzido por *P. fluorescens* e por outras espécies de *Pseudomonas*, ativo contra *Gaeumannomyces graminis* var. *titici* e contra outros patógenos de raízes (BRISBANE & ROVIRA, 1988; THOMASHOW & WELLER, 1988; WELLER & THOMASHOW, 1990).

Certas rizobactérias podem facilitar a solubilização de nutrientes elevando a disponibilidade de minerais como fósforo, para que possam ser absorvidos pelas plantas. Uma PGPR pode atuar no crescimento das plantas usando um ou mais desses mecanismos.

A promoção direta ocorre devido à ação de compostos que são sintetizados pela bactéria ou quando facilitam a absorção de certos nutrientes presentes no solo (LIFSHITZ et al., 1988; KLOEOPPER, 1991; VOISARD et al, 1989.), envolvendo também a produção de fitohormônios (BORONIN et al., 1993). Dentre esses compostos, estão as auxinas, giberelinas e outros compostos similares que são sintetizados pelas bactérias e atuam no crescimento e desenvolvimento das plantas (BEAUCHAMP, 1993). Outro modo de ação direta das rizobactérias é indução de resistência sistêmica (LIU, et al., 1995; PODILE, 1993; WEI et al., 1991; GLICK, 1995). PGPR aplicadas às sementes, às raízes ou ao solo controlam doenças nas raízes e nas partes aéreas das plantas (ALSTROM, 1991; MAURHOFER et al., 1994; WEI et al., 1992) além de conferir uma proteção sistêmica contra vários patógenos (LIU, et al., 1992).

4.4. Reavaliação dos isolados promissores obtidos da seleção massal

Não foi encontrada diferença significativa para a formação de galhas de *M. javanica* pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% (Figura 3), embora esses

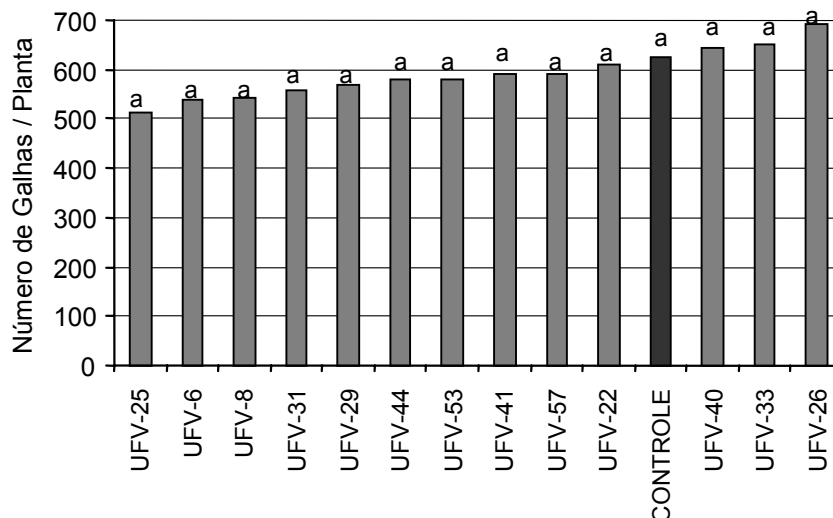


Figura 3 - Resultados da reavaliação dez isolados promissores e dos três deletérios na formação de galhas de *M. javanica*.

isolados tenham proporcionado a redução do número de galhas e de ovos no experimento de seleção massal (item 4.2). Entretanto, isolados que se mostraram promissores na seleção massal, mostraram-se eficientes na redução do número de ovos e os que aumentaram o número de ovos antes continuaram apresentando o mesmo efeito, porém com menor intensidade (Figura 4). Tal fato levou à condução do estudo do efeito do substrato onde se desenvolve a raiz sobre o antagonismo das rizobactérias sobre *M. javanica*.

Não foi observada diferença significativa para altura das plantas e peso da matéria fresca da parte aérea.

4.5. Avaliação do substrato onde se desenvolve a raiz sobre o antagonismo de rizobactérias a *M. javanica*

Os isolados UFV-8 e UFV-57 proporcionaram redução no número de galhas em 34,9% e 36,4% no terriço e 41,5% e 35,3% em solo de barranco, respectivamente, não apresentando diferença significativa quanto ao tipo de substrato comparado com o controle para a formação de galhas (Figura 5).

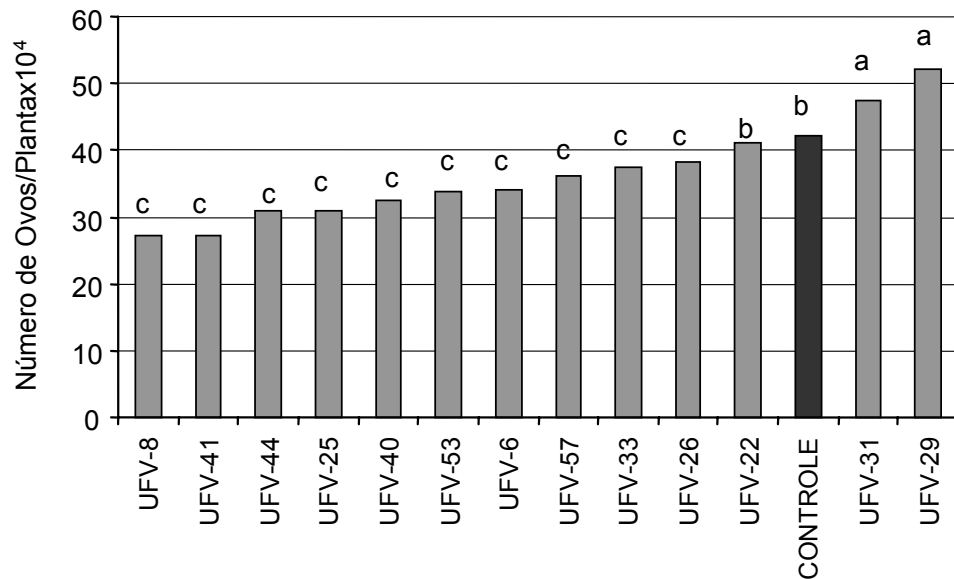


Figura 4 - Resultados da reavaliação dos dez isolados promissores e dos três deletérios na formação de ovos de *M. javanica*.

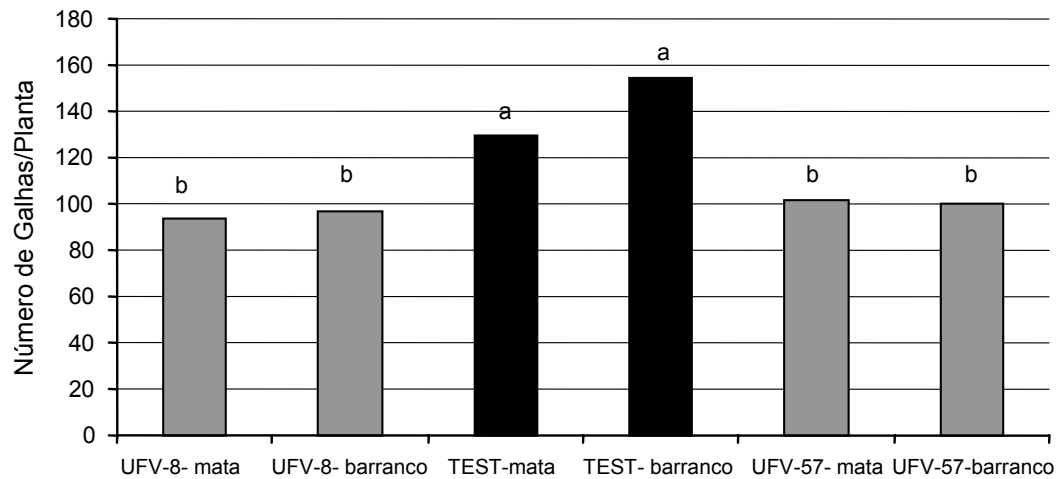


Figura 5 - Resultados da avaliação dos isolados UFV-8 e UFV-57 na formação de galhas de *M. javanica*, atuando sob substratos diferentes.

Porém, isolados que foram eficientes na seleção massal (Quadro 3) proporcionaram redução no número de galhas quando comparados com o controle.

As plantas desenvolvidas em solo de terriço de mata ficaram muito mais altas do aquelas desenvolvidas em solo de barranco com média de 34,86 cm para solo de terriço de mata e 18,84 cm para solo de barranco. O fato de as plantas se desenvolverem mais em solo de terriço de mata pode ser atribuído ao efeito da matéria orgânica que possui maior fertilidade, proporcionando-lhes um melhor crescimento.

De acordo com alguns pesquisadores (KERRY, 2000; CHRISTIE 1959; KLOEPPER et al. 1999), a presença de matéria orgânica no solo estimula a atividade antagonista dos microrganismos agentes do controle biológico. A sua decomposição libera substâncias que retardam ou inibem o crescimento de outros microrganismos benéficos, além de lhes fornecer substrato necessário para a multiplicação. No presente trabalho, não foi observado efeito antagonista dos isolados a *M. javanica* em solo com matéria orgânica.

A inconsistência dos resultados pode estar relacionada a fatores abióticos, dentre os quais a temperatura pode sobressair. O experimento de seleção massal foi realizado nos meses de maio a julho, época fria, e a reavaliação nos meses de outubro a dezembro, época quente. *Meloidogyne javanica* é bem mais agressivo nas épocas mais quentes do ano, quando pode completar o ciclo em menor tempo (TYLER, 1933). As condições ambientais assim como umidade, temperatura e estado nutricional das plantas podem contribuir para a inconsistência do biocontrole com rizobactérias (KLOEPPER et al., 1989; WELLER, 1988). Além de exercer efeito sobre a reprodução do nematóide, a temperatura pode afetar a colonização das raízes pelas bactérias. LOPER et al. (1984) observaram que a temperatura ótima para *P. fluorescens* e *P. putida*, *in vitro*, é de 25-30°C, mas para colonização de raízes a temperatura ideal fica abaixo de 20°C. Segundo WELLER (1988), a atividade microbiana aumenta com o aumento da temperatura; porém, a melhor colonização em baixas temperaturas possivelmente seja resultado de uma baixa competição da microflora natural do solo.

4.6. Avaliação dos isolados com potencial antagonístico a *M. javanica* na eclosão de juvenis

Os isolados mais eficientes na inibição da eclosão de juvenis de *M. javanica* foram UFV-6 e UFV-53, que inibiram a eclosão em 64,9% e 85,7%, respectivamente, comparando-os com o controle ao décimo oitavo dia (Figura 6). Esses isolados também foram eficientes na redução do número ovos e galhas no experimento de seleção massal (Quadro 3). São isolados provenientes de homogeneizados de raízes de plantas de *M. aterrima* e *T. erecta*, ambos do tratamento térmico do solo em microondas.

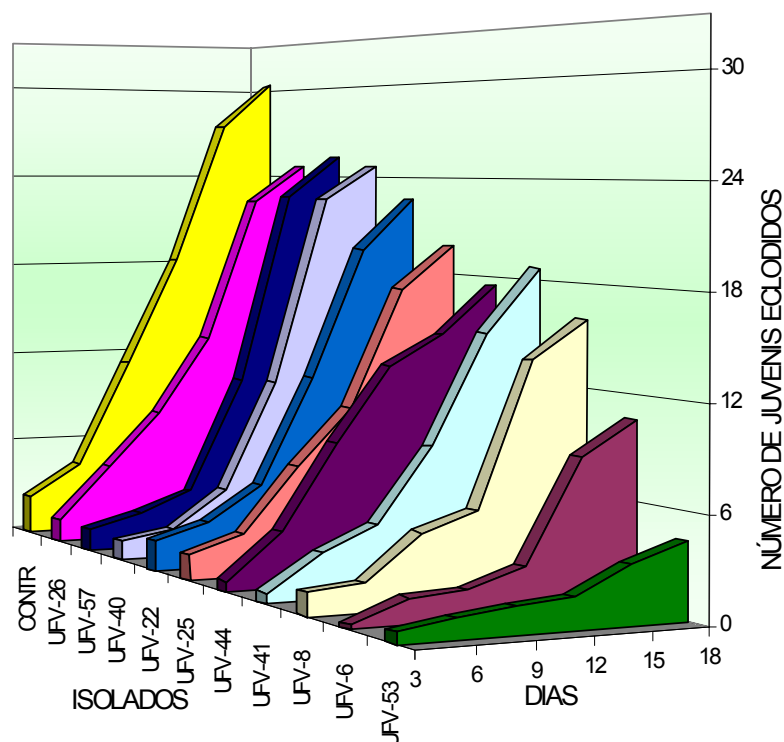


Figura 6 - Redução da eclosão de juvenis de *M. javanica* *in vitro* por dez isolados de rizobactérias previamente selecionadas pelo teste de seleção massal

Embora o isolado UFV-57 tenha sido eficiente na redução do número ovos e galhas *in vivo*, este não foi efetivo na inibição da eclosão, reduzindo apenas 27,22% em relação ao controle.

Presume-se que os mecanismos de ação das rizobactérias biocontroladoras de nematóides se exerçam pelas toxinas produzidas, modificação dos exsudatos radiculares da planta reduzindo a eclosão de ovos, diminuindo a atração e o reconhecimento do hospedeiro, e através da indução de resistência sistêmica (HASKY-GÜNTHER et al., 1998; OOSTENDORP & SIKORA, 1990; SIKORA & HOFFMANN-HERGARTEN, 1992; 1993). Neste teste *in vitro* observou-se apenas a ação de metabólitos tóxicos sobre os ovos, impedindo o desenvolvimento dos juvenis de 1º e 2º estádios e sua eclosão.

Todos os isolados eficientes na seleção massal reduziram a eclosão de juvenis; entretanto, alguns foram mais eficientes que outros.

Os isolados considerados deletérios *in vivo* também estimularam a eclosão. O isolado UFV-33 aumentou a eclosão em 3,70% em relação ao controle (Figura 7). Entretanto, no teste *in vitro*, o isolado UFV-13, que foi deletério *in vivo*, inibiu a eclosão em 90,27%, quando incubado com os ovos de *M. javanica*. Possivelmente isolados deletérios, com efeito sobre a eclosão *in vitro*, não são capazes de se estabelecerem e competirem na rizosfera, e não apresentam o mesmo efeito *in vivo*.

O isolado UFV-53 foi o mais eficiente quando comparado com o controle, porém isolados que se mostraram bons antagonistas *in vivo*, como UFV-57, não apresentaram relação com os resultados obtidos *in vitro*. A falta de inibição de eclosão não significa que o isolado não seja efetivo *in vivo*, pois outros mecanismos antagônicos podem ocorrer em fases distintas do ciclo de vida do nematóide.

Segundo WELLER (1988), nem sempre existe relação entre a habilidade de uma bactéria inibir um patógeno *in vitro* e suprimir *in vivo* a doença causada pelo patógeno. Isolados que produzem zonas de inibição no ágar nem sempre são os melhores agentes no biocontrole. O oposto também pode ocorrer. Resultados obtidos por alguns pesquisadores mostram que organismos com boa atividade antagônica *in vitro* nem sempre possuem boa atividade antagonista no solo (BECKER et al., 1988; NEIPP & BECKER, 1999; RACKE & SIKORA, 1992).

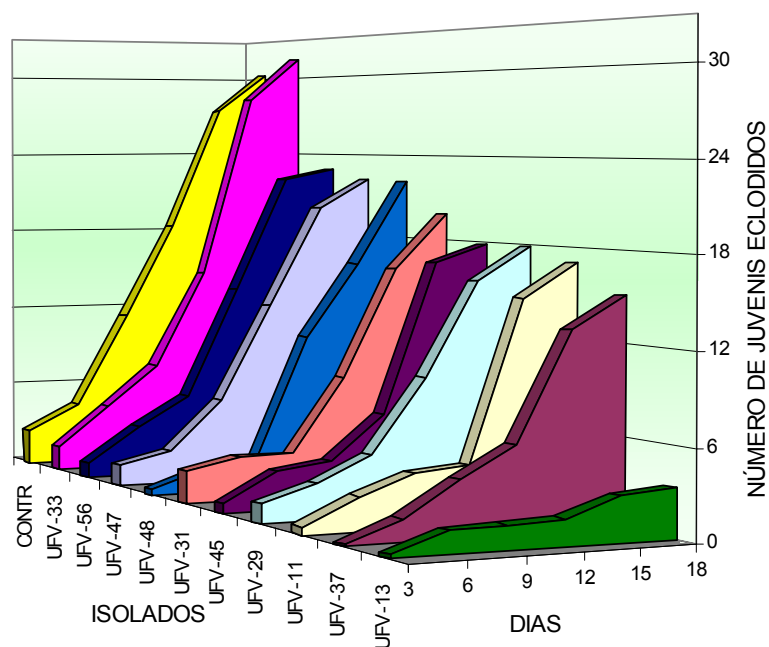


Figura 7 - Influência de dez isolados de rizobactérias tidas como deletérios em teste de seleção massal sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica in vitro*.

Resultados similares foram encontrados por TIAN & RIGGS (2000). Os autores avaliaram o efeito das suspensões de células de 20 isolados supressivos a *Heterodera glycines* e de cinco que proporcionaram o aumento do número de cistos, ovos e J2 *in vivo*. Dos 20 isolados supressivos, 12 inibiram a eclosão, dois não afetaram a eclosão e seis não apresentaram efeito. Dos cinco que intensificaram a formação de cistos, ovos e J2, quatro inibiram a eclosão e um isolado não demonstrou efeito.

BECKER et al. (1988) também observaram uma baixa habilidade de as rizobactérias produzirem compostos que causam a inibição *in vitro* de *Meloidogyne incognita* e a de proporcionarem a redução *in vivo* do número de galhas e de ovos em raízes de pepino.

5. CONCLUSÕES

1. Dos isolados obtidos, os mais eficientes no biocontrole de *M. javanica* provieram da combinação homogeneizado de raízes de *T. erecta* com o tratamento do solo em microondas. Porém, isolados deletérios também foram obtidos dos mesmos tratamentos. Homogeneizado de raízes de outras plantas antagonistas, como *C. juncea* e *M. aterrima*, também propiciaram isolados eficientes e deletérios, assim como os demais tratamentos térmicos do solo.
2. Dentre os isolados eficientes, o UFV-6 e UFV-8 foram os mais promissores na redução do número de galhas e de ovos. Estes isolados provieram de solo submetido à irradiação em microondas e, respectivamente, de homogeneizados de raízes de *T. erecta* e *M. aterrima*. UFV-48 e UFV-29 foram os mais deletérios, permitindo o aumento do número de ovos. Esses isolados vieram, respectivamente, de solo não-tratado e homogeneizado de raízes de *L. esculentum* e *T. erecta*.
3. A reavaliação dos isolados promissores confirmou os resultados obtidos no experimento de seleção massal; porém, a redução e o aumento de ovos ocorreram em menor proporção no segundo ensaio. Os isolados com maior eficiência na redução do número de ovos foram o UFV-8 e o UFV-57, provenientes, respectivamente, de solo submetido a irradiação

em microondas, e não-tratado, e combinados com homogeneizados de *M. aterrima* e *T. erecta*. O isolado UFV-29 foi o mais deletério.

4. O tipo de substrato em que se desenvolveu a raiz não estimulou o antagonismo das rizobactérias a *M. javanica*. Porém, os isolados UFV-8 e UFV-57, eficientes no experimento de seleção massal, também não foram eficientes ao reduzirem o número de galhas.
5. No teste *in vitro*, UFV-6 e UFV-53 foram os que mais inibiram a eclosão de juvenis. Esses isolados foram eficientes também no teste *in vivo*. Porém, isolados deletérios *in vivo* foram eficientes *in vitro*, inibindo a eclosão, como o UFV-13. Já o UFV-53, eficiente *in vivo*, foi ineficiente para inibir a eclosão *in vitro*.
6. Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram raízes plantas antagonistas são melhor fonte de rizobactérias biocontroladoras de *M. javanica*, do que de planta hospedeira apesar de microrganismos, deletérios e neutros também serem encontradas em ambas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AALTEN, P.M.; VITOUR, D. BLANVILLAIN, D.; GOWEN, S.R. and SUTRA, L. 1998. Effect of rhizosphere fluorescent *Pseudomonas* strains on plant-parasitic nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. Letters. Applied Microbiology 27: 357-361.
- ALEXANDER, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. New York: John Willey, 467p.
- ALSTRÖN, S. 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. Journal of Genetics Applied Microbial., 37: 395-501.
- ANTER, E.A., ABD ELGAWAD, M.M. and ALI AH. 1995. Effects of fenamifos and biocontrol agents on cotton growing in nematodes-infested soil. Anzeiger für Schädlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz 68: 12-14.
- AHL, P.; VOISARD, C. and DÉFAGO, G. 1986. Iron bound-siderophores cyanic acid, and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis brassicola* by a *Pseudomonas fluorescens* strain Journal of Phytopathology 116: 121-134.
- AHMAD, J.S. & BAKER, R. 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 77: 182-189.
- BEAUCHAMP, C.J. 1993. Mode d'action des rhizobacteries favorisant la croissance des plants et potentiel leur utilisation comme agent de lutte biologique. Phytoprotection 74: 19-27.
- BECKER, J.O., ZAVALA-MEJIA, E., COLBERT, S.F., SCHROTH, M.N., WEINHOLD, A.R., HANCOCK, J.G., GUNDY, S.D. and VAN-GUNDY, S.D. 1988. Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. Phytopathology 78: 1466-1469.

- BENNETT, R.A & LYNCH, J.M. 1981. Bacterial growth and development in the rhizosphere of gnotobiotic cereal plant. *Journal of Genetics Microbiology* 125: 95-102.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ. 1981. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro *Fitopatologia Brasileira* 6: 553.
- BORONIN, A.M.; KOCHETKOV, V.V.; DUBEIKOVSKY, A.N. and MORDUKHOVA, E.A. 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia. In: VI International Congress of Plant Pathol., Montreal, Canada, Int. Soc. Plant Path., p. 276 (abstr.).
- BRISBANE, P.G & ROVIRA, A.D. 1988. Mechanisms of inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by fluorescent pseudomonads. *Plant Pathology* 37: 104-111.
- BROWN, M.E. 1974. Seed and root bacterization. *Annual Review of Phytopathology* 12:181-197.
- BURG, R.W.; MILLER, B.M.; BAKER, E.E., BIRNBAUM, J.; CURRIE, S. A.; HARTMAN, R.; KONG, Y.-L.; MONAGHAN, R.L.; OLSON, G.; PUTTER, I.; TUNAC, J.B., WALLICK, H.; STAPLEY, E.O; OIWA, R. and OMURA, S. 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organisms and fermentation. *Antimicrob. Agents Chemother* 15:361-367.
- BURR, T.J.; SCHROTH, M.N. and SUSLOW, T. 1978. Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Phytopathology* 68:1377-1383.
- BURR, T.J. & CAESER, 1985. A. Beneficial plant bacteria. *CRC, Crit. Review Plant Science* 2(1):1-20.
- BUYER, J.S. & LEONG, J. 1986. Iron transport-mediated antagonism between plant growth-promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. *Journal of Biological Chemistry*. 261:791-794.
- CAYROL, J.C., DJIAN, C. and FRANKOWSKI, J.P. 1993. Efficacy of abamectin B1 for the control of *Meloidogyne arenaria*. *Fundamental and Applied Nematology* 16:239-246.
- CHEN, Z. X., DICKSON, D.W. and MITCHELL, D.J. 1995. Effects of soil treatments on the survival of soil microorganisms. *Journal of Nematology* 27 (4s):661-663.
- CHEN, Z. X. & DICKSON, D.W. 1998. Review of *Pasteuria penetrans*: biology, ecology, and biological control potential. *Journal of Nematology* 30 (3): 313-340.

- CHET, I.; ORDENTLICH, A. and SHAPIRA R. 1990. Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Plant and Soil*, 129: 85-92,
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society, 539p.
- CURL, E.A. 1982. The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. *Plant Disease* 66: 624-630.
- CRISTIE, J.R. 1959. Plant Nematodes: Their bionomics and control. Agricultural Experiments Stations. University of Florida. 256p.
- DUNLEAVY, J. 1955. Control of damping-off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*, 45: 252-258.
- ELMERICH, C. 1984. Molecular biology and ecology of diazotrophs associated with non-leguminous plants. *Bio/Technology*, 2: 967-978.
- EUCLYDES, R.F. 1983. Sistema para análise estatística genética: SAEG. Viçosa, MG: UFV, 57p.
- FERRAZ, C.A.M., CIA, E. e SABINO, N.P. 1977. Efeito da mucuna e amendoim em rotação com algodoeiro. *Bragantia*, Campinas, 36: 1-9.
- FERRAZ, S.; DIAS, R.D. e FREITAS, L.G. 2001. Controle de nematóides com praticas culturais Pp. 1-51. In: ZAMBOLIM, L. ed. Manejo integrado fitossanidade cultivo protegido, pivô central e plantio direto.
- FERRIS, R.S. 1984. Effects of microwave oven treatment on microorganisms in soil. *Phytopathology* 74: 121-126.
- GAMLIEL, A. and KATAN, J. 1993. Suppression of major pathogens by fluorescent pseudomonads in solarized and non-solarized soils *Phytopathology* 83:68-75.
- GAMLIEL, A. & STAPLETON, J.J. 1993. Effect of chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms and lettuce growth. *Plant Disease* 77(9):886-891.
- GAMILIEL, A. & KATAN J. 1991. Involvement of fluorescent pseudomonads and other microorganisms in increased growth response of plants in solarized soils. *Phytopathology* 81:494-502.
- GLICK, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41:109-117.
- GREENBERG, A.; YOGEV, A. and KATAN, J. 1989. Induced suppressiveness in solarized soils. *Phytopathology* 77:1633-1667.

- HACKENBERG, C. & SIKORA, R.A. 1994. Influence of temperature and soil moisture on the biological control of the potato-cyst nematodes *Globodera pallida* using the plant-health-promoting rhizobacterium *Agrobacterium radiobacter*. Journal of Phytopathology 142:338-344.
- HACKENBERG, C.; MUEHLCHEN, A.; FORGE, T. and VRAIN, T. 2000. *Pseudomonas chlororaphis* strain sm3, bacterial antagonist of *Pratylenchus penetrans*. Journal of Nematology 32(2): 183-189.
- HALLMANN, J, QUADT-HALLMANN, A., MAHAFFEE, W.F. and KLOEPPER, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology 43: 895-914.
- HASKY-GÜNTHER, K.; HOFMANN-HERGARTEN, S.; and SIKORA, R.A. 1998. Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systematically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43). Fundamental and Applied Nematology 21: 511-517,
- HOFMANN-HERGARTEN, S.; GULATI, M.K. and SIKORA, R.A. 1998. Yield response and biological control of *Meloidogyne incognita* on lettuce and tomato with Rhizobacteria. Journal of Plant Disease and Protection 105(4): 349-358.
- HUSSEY, R.S. & BARKER, K. R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.
- KADO, C.I & RESKETT, M.G. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. Phytopathology 60:969-979.
- KATAN, J. 1981 Solar heating of soil for control of soil borne pests. Annual Review of Phytopathology 19:211-219.
- KERRY, B.R. 2000. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes, Annual Review of Phytopathology 38:423-441.
- KLOEPPER, J.W. & SCHROTH, M.N. 1978. Plant promoting rhizobacteria on radishes. Proceedings of the 4th int. Conference on Plant Pathogenic Bacteria v. 2, Gilbert-Clairey, Tours, France. Pp.879-882.
- KLOEPPER, J.W. & SCHROTH, M.N. 1979 Plant growth promoting rhizobacteria: Evidence that the mode of action involves root microflora interactions. Phytopathology 69:1034.
- KLOEPPER, J.W.; LEONG, J.; TEINTZE, M. and SCHROTH, M.N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. Nature 286:885-886.

- KLOEPPER, J.W.; SCHER, F.M., LALIBERTÉ, M. and ZALESCA, I. 1985. Measuring the spermosphere colonizing capacity of bacterial inoculants. *Canadian Journal of Microbiology*. 31: 926-929.
- KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R. and SCHROTH, M.N. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas Sci. Animal Plant Science* 60-64.
- KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R. and ZABLOTOWICZ, R.M. 1989. Free-Living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology* 7: 39-43.
- KLOEPPER, J.W.; ZABLOTOWICZ, R.M. and LIFSHITZ, R. 1990. Plant growth-promoting mediated by rhizosphere colonizers. Pp. 315-326 In: Keister, D.I. and Cregan, P.B. eds. *The rhizosphere and plant growth*. Dordrecht, Academic Publishers.
- KLOEPPER, J.W.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; McINROY, J.A. and COLLINS, D.J. 1991. Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms. *Plant and Soil* 136:95-102.
- KLOEPPER, J.W. 1991. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents of soilborne disease. In: Bay-Peterson, J. (Ed.). *The biological control of plant diseases*. Taiwan, Food and Fertilizer Technology Center 142-152.
- KLOEPPER, J.W.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; McINROY, J.A. and YOUNG, R.W.; 1992a. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidoyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity, *Plant and Soil* 139:74-84.
- KLOEPPER, J.W.; SCHIPPERS, B. and BAKKER, P.A.H.M. Propose elimination of term endorhizosphere. *Phytopathology*, 82:727-727, 1992b.
- KLOEPPER, J.W.; RODRIGUEZ-KÁBANA; ZEHNDER, G.W.; MURPHY, J. F.; SIKORA, E. and FERNÁNDEZ, C. 1999. Plant root-bacterial interactions in control of soilborne disease and potential extension to systemic and foliar disease. *Australasian Plant Pathology* 28(1): 21-26.
- KLUEPFEL, D.A., McINNIS, T.M. and ZEHR, E.I. 1993. Involvement of root-colonizing bacteria in peach orchard soils suppressive of the nematode *Criconemella xenoplax*. *Phytopathology* 83:1240-1245.
- LANDY, M.; WARREN, G.H.; MOSEMAN, S.S. and COLIO, L.G. 1948. Bacillomycin: an antibiotic from *Bacillus subtilis* active against pathogenic fungi. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 67: 39-41.

- LAZAROVITS, G. 1997. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. Hort Science 32(2): 188-192.
- LIFSHITZ, R. GUILMETTE, H. & KOZLOWSKI, M. 1988. Tn5-mediated cloning of genetic region from *Pseudomonas putida* involved in the stimulation of plant root elongation. Applied and Environment Microbiology. 54:3169-3172.
- LIU, L.; KLOEPPER, J.W. and TUNZUN, S. 1993. Induction of systemic resistance to *Fusarium oxysporum* by PGPR strains In: VI International Congress of Plant Pathology, p. 214. (abctr.).
- LIU, L.; KLOEPPER, J.W. and TUNZUN, S. 1992. Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus by seed inoculation with selected rhizobacterial strains. (Abstr.). Phytopathology, 82: 1108-1109, (abstr).
- LOPER, J.E.; SUSLOW, T.V. and SCHROTH, M.N. 1984. Lognormal distribution of bacterial populations in the rhizosphere. Phytopathology 74:1454-1460.
- LUGTENBERG, B.J.J.; WEGER, L.A. DE and BENNETT, J.W. 1991. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease. Current Opinion in Biotechnology 2: 457-464.
- LUZ, W.C. Microbiolização de sementes para o controle de doenças de plantas. 1993. Pp 33-77 In: Fernandes J.M.; Prestes A.M. e Picinini E.C. ed. Revisão Anual de Patologia de Plantas.
- LYNCH, J.M. 1978. Microbial interactions around imbibed seeds. Annual Applied Biology 89:165-167.
- MAURHOFER, M.; HASE, C.; MEWLY, J.P. & DÉFAGO, G. 1994. Inducing of systemic resistance of tobacco necrosis virus by root colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: Influence of the *gacA* gene and pyoverdine production. Phytopathology 84:139-146.
- MAZZOLA, M.; COOK, R.J.; TOMASHOW, L.S.; WELLER, D.M. and PIERSON, L.S. 1992. Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. Applied and Environment Microbiology 58: 2616-2624,
- MELO, I.S. 1998. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. Pp. 87-110. In: Melo, I.S. de; Azevedo, J.L. de. Ecologia Microbiana.
- MILLER, P.M. & AHRENS, J.F. 1971. Influence of growing marigolds, weeds, two cover crops and fumigation on subsequent populations of parasitic nematodes and plant growth. Plant Disease Reporter 56(8): 642-646.

- MICHENER, H.D. & SMELL, N. 1949. Two antifungal substances from *Bacillus subtilis* cultures. Archives Biochemistry 22: 208-214.
- NEIPP, P.W. & BECKER, J.O. 1999. Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris* against *Heterodera schachtii*. Journal of Nematology, 31 (1): 54-61.
- NEHL, D.B.; ALLEN, S.J. and BROWN, J.F. 1996. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. Applied Soil Ecology, 5:1-20.
- OKA, Y.; CHET I. and SPIEGEL, Y. 1993. Control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. Biological Science and Technology, 3: 115-126.
- OOSTENDORP, M. & SIKORA, R.A. 1989 Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. Review Nematology, 12(1): 77-83.
- OOSTENDORP, M. & SIKORA, R.A. 1990. *In vitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. Review Nematology, 14: 269-274.
- PAULITZ, T.C. 1990 Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. Pp. 713-724 In: Baker, R.R. ed. New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases. New York, Liss.
- PEACOCK, F.C. 1959. The development of technique for studying the host/parasite relationship of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* under controlled conditions. Nematologica 4: 43-55.
- PODILE, A.R. 1993. Induction of host-plant resistance in peanut against soilborne plant pathogens by bacillus subtilis. In: VI international Congress of Plant Pathology. Montréal, Canada, International Society. Plant Pathology, p. 213 (abstr).
- RACKE, J. & SIKORA, R.A. 1992a. Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*. Soil Biology and Biochemistry 24: 521-526.
- RACKE, J. & SIKORA, R.A. 1992b. Influence of the plant health-promoting rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* and *Bacillus sphaericus* on *Globodera pallida* root infection of potato and subsequent plant growth. Journal of Phytopathology 134: 198-208.
- RICKARD, D.A. & DUPREE, A. 1978. The effectiveness of ten kinds of marigolds and five other treatments for control of four *Meloidogyne* spp. Journal of Nematology, 10: 296-297.

- ROMEIRO, R.S. 2001. Métodos em bacteriologia de plantas. Viçosa: UFV, 279p.
- SAS Institute SAS/STAT user's guide, version 6, fourth edition, v. 2. SAS institute Inc., Cary, NC. 1989.
- SASSER, J.N. & FRECKMAN, D.W., A world perspective on nematology: the role of the society, Pp. 7-14, 1987. *In*: J.A. VEECH and D.W. DICKSON, ed. Vistas on Nematology, Maryland: Society of Nematologists.
- SASSER, J.N. 1989. Plant parasitic nematodes: The farmer's hidden enemy. Publication Department of Plant Pathology and the Consortium for International Crop Protection 114p.
- SAYRE, R.M. & STARR, M.P. 1988. Bacterial diseases and antagonisms of nematodes. Pp. 69-101 *In*: Poinar, Jr. & Jansson. Diseases of Nematodes. Boca Raton, Florida.
- SCHMIDT, E.L. 1979. Initiation of plant root microbe interactions. *Annual Review of Microbiology* 33: 355-376.
- SCHROTH, M.N. & HANCOCK, J.G. 1981. Selected topics in biological control. *Annual Review of Microbiology*, 35: 453-476.
- SCHROTH, M.N. & HANCOCK, J.G. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science* 216: 1376-1381.
- SCHIPPPRS, A.B.; BAKKER, A.W. and BAKKER, P.H.M.A. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25:339-358.
- SCHIPPPRS, A.B. 1988. Biological control of pathogens with rhizobacteria. *London Philosophical Transaction of the Royal Society* 318: 283-293.
- SIDDIQUI, Z.A. & MAHMOOD, I. 1999. Role of rhizobacteria in the management of plant-parasitic nematodes: A review: *Bioresource Technology* 69:167-179.
- SHARMA, R.D.; PEREIRA, J. and RESCK, D.V.S. 1982. Eficiência de adubos verdes no controle de nematóides associados à soja nos cerrados. Planaltina: EMBRAPA-CPAC 30p (boletim de pesquisa, 13)
- SIKORA, R.A. 1988. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. *Medicine Facuteit Landbouwwettenschapelipke Rijksuniversiteit Gent* 53(2b): 867-878.

- SIKORA, R.A. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 30: 245-270.
- SIKORA, R.A. & HOFFMANN-HERGARTEN, S. 1992. Importance of plant health-promoting rhizobacteria for the control of soil-borne fungal disease and plant parasitic nematodes. *Arabien Journal Plant Protection* 10(1): 53-48.
- SIKORA, R.A. & HOFFMANN-HERGARTEN, S. 1993. Biological control of plant- parasitic nematodes with plant health-promoting rhizobacteria. Pp.166-172. In *Proceedings of Beltsville Symposium XVIII: Pest management: Biologically based technologies*. Agricultural Research Service, USDA Beltsville, MD.
- SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. 1988. *Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília: MEC, 235p. (Programa Ciências Agrárias nos Trópicos Brasileiros).
- STAPLETON, J.J. & DEVAY J.E. 1982. Effect of soil solarization on populations of selected soilborne microorganisms and growth of deciduous fruit tree seedlings. *Phytopathology* 72: 323-326.
- STAPLETON, J.J. & DEVAY J.E. 1984. Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response. *Phytopathology* 74: 255-259.
- STIRLING, G.R., 1991. *Biological control of plant parasitic nematodes: progress problems, and prospects*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- STUTZ, E.W.; DÉFAGO, G. and KERN, H. 1986. Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved suppression of black root rot of tobacco. *Phytopathology*, 76: 181-185.
- SUBRAHMANYAN, P., REDDY, M.N. and RAO, A.S. 1983. Exudation of certain organic compounds from seeds of groundnut. *Seed Science and Technology*.11: 267-272.
- SUSLOW, T.V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. In: *Phytopathogenic Prokaryotes*. Ed. M.S. Mount. G. H. Lacy, 1:187-223. London Academic.
- SUSLOW, T.V. & SCHROTH, M.N. 1982. Role of deleterious rhizobactérias as minor pathogens in reducing crop growth. *Phytopathology* 72: 111-115.
- TIAN, H. & RIGGS, R.D. 2000. Effects of rhizobacteria on soybean cyst nematodes *Herodera glycines*. *Journal of Nematology* 32(4): 377-388.

- THOMASHOW, L.S. & WELLER, D.M. 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* In: biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Journal Bacteriology 170: 3499-3508.
- TYLER, J. 1933. Development of the root-knot nematode as affected by temperature 7(10): 373-388.
- VOISARD, C., KEEL, C., HAAS, D., and DEFAGO, G. 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. EMBO Journal 8: 351-358.
- WEI, G.; KLOEPPER, J.W. and TUNZUN, S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology 81(12): 1508-1512.
- WELLER, D.M. & COOK, R.J. 1982. Pseudomonads from take-all conducive and suppressive soils. Phytopathology 72: 264.
- WELLER, D.M. & COOK, R.J. 1986. Suppression of root diseases of wheat by fluorescent pseudomonads and mechanisms of action. Phytopathology, 13(11): 99-107.
- WELLER, D.M. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Annual Review of Phytopathology 26: 1508-1512.
- WELLER, D.M. & THOMASHOW, L.S. 1990. Antibiotics: evidence for their production and sites where they are produced Pp. 703-711 In: Baker, R.R. & Dunn, P.E. Ed. New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pest and diseases. New York, Liss.
- WESTCOTT, S.W. & KLUEPFEL, D.A. 1993. Inhibition of *Cricodemella xenoplax* egg hatch by *Pseudomonas aureofaciens*. Phytopathology 83:1245-1249.
- ZEVALEDA-MEIJIA, E. & VAN GUNDY, S.D. 1982. Effects of rhizobacteria on *Meloidogyne* infection. Journal of Nematology 14:475-476.

APÊNDICE

APÊNDICE 1

Resumo das ANAVAs

FV	GL	ALT	PPA	QM		
				PRA	NOT ^a	NGA
TT	2	7,66 ^{NS}	444,6**	257,55**	0,53**	178445,15**
PL	4	79,84 ^{NS}	26,09 ^{NS}	43,69 ^{NS}	0,12 ^{NS}	5163,94 ^{NS}
TT x PL	8	181,83 ^{NS}	40,69	34,31 ^{NS}	0,11 ^{NS}	53,42 ^{NS}
ERRO	71	101,71	48,17	34,91	5,73	32,13
MÉDIA		75,19	53,63	19,16	6,09	223,67
CV %		13,41	12,94	30,84	4,66	25,35

^aDados transformados usando a função logarítmica, aplicada aos dados originais.

TT = Tratamento térmico.

PI = Planta.

ALT = Altura da parte aérea da planta.

PPA = Peso da parte aérea.

PRA = Peso da raiz.

NOT = Número de ovos transformados.

NGA = Número de galhas.