

***Bacillus subtilis* E ABAMECTINA NO CONTROLE DE *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM ALGODOEIRO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS**

WILLIAN AKIO HIGAKI

***Bacillus subtilis* E ABAMECTINA NO CONTROLE DE *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM ALGODOEIRO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS**

WILLIAN AKIO HIGAKI

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de Concentração: Produção Vegetal

Orientador:
Prof. Dr. Fábio Fernando de Araújo

633.519 3 Higaki, Willian Akio

H634b

Bacillus subtilis e abamectina no controle de *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* e alterações fisiológicas em algodoeiro em condições controladas/ Willian Akio Higaki. – Presidente Prudente, 2012.

44 f : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade do Oeste Paulista – Unoeste: Presidente Prudente – SP, 2012.

Bibliografia.

Orientador: Fábio Fernando de Araújo.

1. Algodão -- Controle integrado -- Doenças e pragas. 2. Algodão cultivado. 3. Controle biológico.
I. Título.

WILLIAN AKIO HIGAKI

***Bacillus subtilis* E ABAMECTINA NO CONTROLE DE *Rotylenchulus reniformis*
e *Pratylenchus brachyurus* E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM ALGODOEIRO
EM CONDIÇÕES CONTROLADAS**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de Concentração: Produção Vegetal

Orientador:

Prof. Dr. Fabio Fernando de Araújo

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Fernando de Araujo
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Pacheco Santos
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares
UNESP/FCAV, Campus de Jaboticabal
Jaboticabal - SP

DEDICATÓRIA

A todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho, com atenção especial aos que cito abaixo:

À Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, pela oportunidade de aperfeiçoamento concedida para realização do curso;

Ao professor Dr. Fabio Araújo, pela amizade, apoio, orientação, por todos os ensinamentos e confiança depositados em mim durante a realização deste trabalho;

Aos professores e funcionários por terem proporcionado um ótimo ambiente acadêmico durante a realização do curso;

Aos amigos do programa de pós-graduação em Agronomia, pela ajuda e carinho que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e especialmente a Deus pela ajuda, força e perseverança que ele tem me proporcionado.

A meus pais, pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis.

Ao professor orientador, Dr. Fabio Araújo, pelos ensinamentos e confiança no desenvolvimento deste trabalho, pela amizade e carisma e que com alegria e dedicação, fez aprimorar meus conhecimentos.

A todos os professores, sem exceção, pelos conhecimentos que me foram passados e por todos os momentos que passamos juntos.

Aos amigos que conviveram comigo durante o decorrer do curso de Mestrado em Agronomia.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram na elaboração deste trabalho.

“Os conceitos físicos são livres criações do intelecto humano. Não são, como se poderiam pensar determinados exclusivamente pelo mundo exterior. No esforço de entendermos a realidade, muito nos parecemos com o indivíduo que tenta compreender o mecanismo de um relógio fechado [...] Se for engenhoso, poderá formar uma imagem do mecanismo que poderia ser responsável por tudo quanto observa, mas jamais poderá estar totalmente certo de que tal imagem é a única capaz de explicar suas observações. Jamais poderá confrontar sua imagem com o mecanismo real”.

Albert Einstein

RESUMO

***Bacillus subtilis* e abamectina no controle de *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* e alterações fisiológicas em algodoeiro em condições controladas**

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento do algodoeiro em solos infestados com nematoides em função do tratamento de sementes com nematicida químico (abamectina) e *Bacillus subtilis*. Foram utilizados os genótipos de algodoeiro: IAC 25, Deltaopal e Nuopal. O solo utilizado no experimento foi coletado em área de cultivo de algodoeiro nos Municípios de Luiz Eduardo Magalhães e São Desidério, localizados no Oeste Baiano, com histórico prévio de infestação de *Pratylenchus brachyurus* e *Rotylenchulus reniformis*. Para avaliação da eficiência do controle biológico de nematoides com *Bacillus subtilis*, procedeu-se a inoculação prévia das sementes de algodão no momento da semeadura, utilizando-se também como referência comparativa a aplicação de nematicida de contato Abamectina (AVICTA 500 FS®) nas sementes. Aos 45 dias de cultivo foram coletadas amostras de tecido foliar para realização de análises de prolina e peroxidase nas folhas. O genótipo mais suscetível (Deltaopal) apresentou maior teor de prolina nas folhas. As plantas foram coletadas aos 60 dias após a semeadura para a avaliação de nematoides nas raízes e no solo em cada tratamento. A hipótese de que o *B. subtilis* possa atuar de forma eficaz no controle dos nematoides (*R. reniformis* e *P. brachyurus*) no cultivo do algodoeiro, avaliados neste estudo, foi confirmada. Foi também comprovado que o tratamento com *B. subtilis* equivaleu-se à eficiência de controle obtido com o uso do nematicida convencional. Os genótipos de algodoeiro responderam de forma diferente aos tratamentos efetuados para controle dos nematoides. O controle de nematoides e o desenvolvimento das plantas em função dos tratamentos efetuados foram mais significativos nos solos com maior infestação de nematoides.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum*. rizobacteria. controle biológico. nematicida.

ABSTRACT

***Bacillus subtilis* and abamectin in control *Rotylenchulus reniformis* and *Pratylenchus brachyurus* and physiological changes in controlled conditions in cotton**

The aim of this study was to evaluate the effects of cotton seed treatments with *Bacillus subtilis* and a chemical nematicide (abamectin) on plant development in soils infested with nematodes. For this, the cotton genotypes IAC 25, Deltaopal and Nuopal were cultivated in ceramic pots with 10 kg of soil in a greenhouse. The soils samples were collected from areas under cotton cultivation in western Bahia State infested with *Pratylenchus brachyurus* and *Rotylenchulus reniformis*. To evaluate the efficiency of biological control of nematodes with *B. subtilis*, a previous inoculation of the cotton seeds at the date planting was made comparatively to the reference the application of the nematicide abamectin (AVICTA 500 FS®) in the seeds. After 45 days of cultivation leaf samples were collected for proline and peroxidase analyzes in all treatments. The plants were analyzed 60 days after planting for active nematodes in the root and in the soil. The most susceptible genotype (Deltaopal) showed higher proline content in their leaves. The hypothesis that the *B. subtilis* could act effectively in the control of the nematodes *R. reniformis* and *P. brachyurus* in cotton plants was confirmed in this study. It was also observed that the treatment of cotton seeds with *B. subtilis* was as efficient as the treatment with the chemical nematicide abamectin. The cotton genotypes responded differently to the chemical and biological control treatments. The effects of the both seed treatments on the reduction of the nematodes and on the plant growth were more pronounced in the soils with higher infestation.

Key-words: *Gossypium hirsute*. Rhizobacteria. biological control. nematicide.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01 - Teor de prolina em folhas de algodoeiro em função dos tratamentos com abamectina e *B. subtilis* em três genótipos (Deltaopal, IAC 25 e Nuopal) cultivado em dois solos de localidades diferentes: L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério..... 29
- FIGURA 02 - Teor de peroxidase em folhas de algodoeiro em função dos tratamentos com Abamectina e *B. subtilis* em três genótipos (Deltaopal, IAC 25 e Nuopal) cultivado em dois solos de localidades diferentes: L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério..... 30

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	- Análise de nematoides nas amostras de solo nos locais onde foram coletadas. Valores em números de juvenis por 100 cm ³ de solo.....	25
TABELA 02	- Médias da massa fresca das raízes e massa seca da parte aérea do algodoeiro para os tratamentos com <i>B. subtilis</i> e abamectina efetuado em três genótipos cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides (<i>R. reniformis</i> e <i>P. brachyurus</i>).....	31
TABELA 03	- Médias da massa fresca das raízes e massa seca da parte aérea de algodoeiro para os tratamentos com <i>B. subtilis</i> e abamectina efetivados em três genótipos cultivados em função do local de coleta do solo (L1, L2) utilizado no experimento.....	31
TABELA 04	- Médias do número de nematoides nas raízes de algodoeiro para tratamentos com <i>B. subtilis</i> e abamectina efetivado em três genótipos, cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides.....	32
TABELA 05	- Médias do número total de nematoides nas raízes de algodoeiro para os tratamentos com <i>B. subtilis</i> e abamectina efetivado em três genótipos cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides.....	33
TABELA 06	- Médias do número de formas ativas de nematoides no solo para os tratamentos com <i>B. subtilis</i> e abamectina efetivado em três genótipos de algodoeiro cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides (<i>R. reniformis</i> e <i>P. brachyurus</i>).....	33
TABELA 07	- Médias do número de formas ativas de nematoides (<i>R. reniformis</i> e <i>P. brachyurus</i>) no solo para tratamentos com <i>B. subtilis</i> e abamectina efetivado em três genótipos de algodoeiro em função do local de coleta do solo utilizado no experimento.....	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Característica Botânicas do Algodoeiro.....	14
2.2 Importância Econômica do Agronegócio no Algodão.....	15
2.3 O Algodoeiro na Região do Oeste da Bahia.....	16
2.4 Histórico e Importância dos Nematoides.....	17
2.5 Nematoides em Algodoeiro	18
2.5.1 Nematóide reniforme	18
2.5.2 Nematóide das lesões.....	19
2.6 Alterações Fisiológicas das Plantas Atacadas por Nematoides.....	19
2.7. Formas de Controle de Nematoides.....	21
2.7.1 Controle químico	21
2.7.2 Cultivares resistentes	22
2.7.3 Controle biológico com <i>Bacillus subtilis</i>	22
3 OBJETIVO.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Avaliações de Crescimento da Planta e Infestação de Nematoides	26
4.2 Análise de Prolina.....	26
4.3 Análise de Atividade da Guaiacol Peroxidase	27
4.4 Análises Estatísticas.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6 CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O algodão é uma das principais commodities a nível nacional e mundial e o Brasil situa-se entre os maiores produtores mundiais, tanto pela produção de fibras como de sementes (FREIRE, 2007). A produção de algodão encontra-se em torno de 3,7 milhões de toneladas, colocando o país em posição de destaque na exportação mundial de fibras (IBGE, 2010). O aumento da produção ocorreu devido ao uso crescente de tecnologias, principalmente de insumos e cultivares com maior potencial produtivo, tolerantes ou resistentes a doenças.

São encontrados relatos de pelo menos 250 patógenos do algodoeiro. Destes, 90% são fungos, havendo registro de ataque de vírus, bactérias e nematoides (KIRKPATRICK; ROTHROCK, 2001). Os nematoides de galha (*Meloidogyne incognita* (Kofoid; White; Chitwood)), das lesões (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey; Filipjev; Schuurmans Stekhoven)) e o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* (Linford; Oliveira)) são considerados importantes parasitas para a cultura do algodoeiro no Brasil (INOMOTO, 2001).

Os danos causados por nematoides podem resultar em massa radicular deficiente e menos volumosa, sintoma de carência nutricional e subdesenvolvimento da parte aérea (FERRAZ; LORDELLO, 1961). Os sintomas podem ocorrer na forma de murcha das plantas durante os períodos mais quentes do dia, menor desenvolvimento das plantas ocasionado pelo comprometimento do sistema radicular, desfolha prematura das folhas, sintomas de deficiência nutricional, decréscimo da eficiência das raízes em absorver e translocar nutrientes, além do menor crescimento da parte aérea culminando em menor produção (TIHOHOD, 2000). Os sintomas descritos podem ser confundidos com condições adversas do solo como deficiência nutricional, compactação ou com outros patógenos (ASMUS; INOMOTO, 2007).

As estratégias de manejo para controle dos nematoides incluem o controle químico, práticas culturais, controle biológico e uso de cultivares resistentes (RUANO, 1997). O controle químico de nematoides parasitas de algodoeiro pode ser feito através do uso de nematicidas. Estes são extremamente tóxicos e danosos ao meio ambiente, além de encarecerem o sistema de produção (DONG; ZHANG, 2006).

No manejo dos nematoides no solo, pode se ter como estratégia o controle biológico, uma vez que ele possibilita a diminuição da densidade populacional do parasita no campo e equilibra a microbiota do solo, tornando-o supressivo ao patógeno, de forma menos agressiva ao meio ambiente (PADILHA; SAMUELL, 2000). As rizobactérias podem atuar diretamente sobre os nematoides por meio de antibióticos e toxinas que inibem a eclosão e a mobilidade dos estágios juvenis. Desta forma, é possível reduzir a infecção dos nematoides nas raízes das plantas, modificando os exsudatos radiculares. Assim, existe a possibilidade de fazer com que os exsudatos não sejam reconhecidos pelos nematoides e deixem de estimular a eclosão dos mesmos. (RAMAMOORTHY et al., 2001).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características Botânicas do Algodoeiro

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é considerado a mais importante das fibras têxteis, naturais ou artificiais (CARVALHO, 1996). O algodoeiro herbáceo é uma das 50 espécies já classificadas e descritas no gênero *Gossypium* (CRAVEM et al., 1994). A sua planta, também chamada de anual ou “upland”, possui uma estrutura organográfica singular com dois tipos de macrófilos (frutíferas e vegetativas), flores completas possuindo um terceiro verticilo floral (brácteas), que proporciona uma proteção extra. Além disso pode possuir, na base interna e externa, glândulas de secreção (nectários), apresentando prófilos, folhas sem bainha com duas estípulas, dois tipos de glândulas e, pelo menos, duas gemas na base de cada folha (MAUNEY, 1984).

Sendo uma planta superior, espermatófita, dicotiledônea, com um genoma de elevada complexidade, (alelotetraplóide, com $2n=52$ cromossomos) na espécie *G. hirsutum*, apresenta anatomia interna também de elevado nível de organização. Este nível de organização compreende, ainda, tecidos condutores bem desenvolvidos, estômatos nas duas faces da folha, glândulas internas e nectários florais e extraflorais (GRIDI-PAPP, 1965).

Pode-se dividir o ciclo do algodoeiro em cinco fases. A primeira compreende da semente à emergência. Nesta fase ocorrem a embebição, a germinação da semente e o estabelecimento dos cotilédones. Dura, em média, de 4 a 10 dias e pode se prolongar em condições desfavoráveis. Na segunda fase, surge o primeiro botão floral que, geralmente, é formado aos 30 dias, enquanto a terceira fase se caracteriza pelo aparecimento da primeira flor, que ocorre aos 45 dias. Já na quarta se dá pela abertura do primeiro capulho, aos 90 dias. Finalmente a quinta fase inclui as primeira e última colheitas, quando as maçãs estão completamente abertas, o que ocorre, em média, aos 126 dias e o ciclo total é em media cerca de 160 dias (SOUZA; BELTRÃO, 1999).

2.2 Importância Econômica do Agronegócio no Algodão

O algodoeiro é produzido em mais de 60 países, ainda que, somente cinco deles: China, Índia, Estados Unidos, Paquistão e Brasil; sejam responsáveis por 80% da produção mundial do algodão. Tendo multiplicidade de uso das suas sementes de qualidade (óleo, proteína, celulose e fertilizantes), entretanto, o algodoeiro é cultivado, principalmente para a produção de fibras (CHIAVEGATO et al., 2009).

O agronegócio do algodão é uma das principais atividades tanto na geração de renda como na ocupação de mão de obra, como também na geração de empregos em todo mundo, especialmente nos setores primário e industrial. No Brasil, a cadeia produtiva do algodão movimenta um valor global de mais de 120 bilhões de reais. A China, maior produtora e consumidora mundial dessa “commodity”, apresenta mais de 50 milhões de produtores de algodão, com rendimento médio de mais de 1.000 kg de fibras por hectare. Já a Índia possui mais de 10 milhões de hectares plantados com essa cultura (BELTRÃO; AZEVEDO, 2008).

No Brasil, o cultivo de algodão chegou a mais de 4,5 milhões de hectares de algodão, sendo a maioria na região Nordeste (BELTRÃO; AZEVEDO, 2008). Atualmente, abastece a indústria têxtil nacional, na qual é responsável por 60% dos tecidos produzidos no país, além de gerar grande número de empregos desde a lavoura até a indústria, constituindo-se em cultura de alta importância social e econômica (ANUÁRIO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 2010).

O principal produto do algodoeiro é a fibra, que possui milhares de aplicações industriais, dentre as quais se pode citar: confecções de fios para tecelagem de vários tipos de tecido, preparação de algodão hidrófilo para enfermagem, confecção de feltro, cobertores e estofamentos, obtenção de celulose e outros derivados (MELO, 2004).

Em 2009, o Brasil destinou ao exterior 504,9 mil toneladas de pluma, que proporcionaram faturamento de 684,5 milhões de dólares. Os principais clientes são Indonésia, Coreia do sul, China, Paquistão e Taiwan, os quais representam 75% das aquisições. No total, são 36 países para os quais o Brasil envia suas fibras (ANUÁRIO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 2010).

2.3 O Algodoeiro na Região do Oeste da Bahia

No Oeste-Baiano os municípios de Barreiras, Luís Eduardo Magalhães, São Desidério, Correntina, Formosa do Rio Preto e Riachão das Neves contribuem com 30% da produção de pluma no país e são os polos de maiores produções dessa cultura (AIBA, 2009). Atualmente, cerca de 90% da área cultivada com algodoeiro no Estado da Bahia encontra-se nessa região (SANTOS et al., 2007). Símbolo de um arrojado projeto de desenvolvimento da região nos últimos anos, o Município de São Desidério, localizado no Oeste da Bahia, superou Sorriso no Mato Grosso. Deste modo, tornou-se o maior produtor de algodão do país, responsável por 16% de toda a produção brasileira e por 47% do que é colhido na Bahia (ABAPA, 2011).

Caracterizado como um modelo agrícola dinâmico, arrojado e moderno, com elevados investimentos em benfeitorias, insumos e equipamentos agrícolas a região Oeste tem despontado como referência no agronegócio (HAMAWAKI et al., 2007). Com a possibilidade de mecanização total da área devido à ótima topografia plana, a cultura tem proporcionando uma fibra de alto padrão de qualidade (VIANA et al., 2006). As médias de produtividade e qualidade da produção da cultura estão entre as melhores do país. Logo, o impacto social da cultura do algodão na região é bastante significativo e proporciona milhares de oportunidades trabalho à sociedade. Desta forma promove, também, o setor de serviço e indústria (HAMAWAKI et al., 2007). Entretanto, o setor vem passando por um aumento crescente no consumo de insumos. Isto leva a uma diminuição da rentabilidade financeira da atividade (VIANA et al., 2006).

O monitoramento e mapeamento de nematoides na Bahia em 2010 mostraram que 41% de amostras de solo e 18% de raízes estavam infectadas com o nematoide *M. incognita*, com populações variando de 1 a 75 nematoides/100 cm³ de solo. Enquanto que *P. brachyurus*, esteve presente em 67% amostras de solo e 78% amostras de raízes. Já *R. reniformis*, em 20% amostras de solo e 8% de raízes com pico médio de população de 1136 nematoides/100 cm³ de solo (MATOS et al., 2010). Estas informações são fundamentais, visto que, os produtores precisam conhecer quais espécies de nematoides presentes na região, sendo isto indispensável para realização de planejamentos no cultivo, implementação de manejos adequados e escolha de variedades a serem utilizadas (ZAMBIASI et al.,

2007). É necessário salientar, também, que estes patógenos podem causar grandes prejuízos para a cultura, apesar de não haver estudos quanto à redução na produção de algodão na região do Oeste da Bahia (MATOS et al., 2010).

2.4 Histórico e Importância dos Nematoides

Os nematoides são vermes microscópicos parasitos obrigatórios de plantas. A sua maioria são habitantes do solo que, em determinadas densidades populacionais, causam diversas alterações na planta, muitas vezes com severas perdas na produtividade das culturas (SUASSUNA et al., 2008).

Há aproximadamente 250 anos, Needham e Turbevill descobriram o nematoide do trigo *Anguina tritici*, sendo o primeiro registro de um nematoide parasito de plantas. Ao examinar o interior de sementes de trigo, estes pesquisadores observaram uma “substância branca, fina, macia e fibrosa” que possuía vida. Em 1885, o Reverendo Berkeley descobriu o nematoide formador de galha *Meloidogyne spp.* que ocorre mundialmente em inúmeras culturas (TIHOHOD, 1993).

As perdas na produção das culturas decorrentes das nematoses variam de suaves, com menos de 1%, até a destruição total. O grau dos danos depende da densidade populacional dos nematoides presentes, da suscetibilidade da cultura e das condições edafoclimáticas, tais como fertilidade, umidade e presença de outros organismos patogênicos que podem interagir com os nematoides (TIHOHOD, 1993).

O principal agente causal das nematoses no Brasil é *M. incognita*, predominante nos Estados de São Paulo, Paraná e Goiás (SALGADO et al., 1996). Quando infectadas por nematoides, as plantas crescem menos em virtude das lesões provocadas no sistema radicular. É comum observar folhas que mostram mosqueados de coloração amarela, algumas vezes avermelhado em contraste com o verde normal da folha. Este sintoma é conhecido como carijó. Posteriormente essas áreas amareladas ou avermelhadas passam para a coloração marrom. Em seguida, ficam necrosadas e, nas infestações mais graves, ocorre intensa desfolha (CIA; FUZATTO, 1999).

2.5 Nematoides em Algodoeiro

O algodoeiro é atacado por várias espécies de nematoides, tais como, *R. reniformis*, *Belonolaimus longicaudatus* (Steiner), *Hoplolaimus columbus* (Daday), *M. incognita*, *P. brachyurus*, *Paratrichodorus spp.* (Siddiqi) e *Tylenchorhynchus spp.* (Cobb) (PAIVA et al., 2001). Porém, no Brasil, apenas três espécies causam danos importantes à cultura: *M. incognita* (nematóide de galha), *R. reniformis* (nematóide reniforme) e *P. brachyurus* (nematóide das lesões radiculares) (INOMOTO, 2001).

2.5.1 Nematóide reniforme

O nematóide *R. reniformis* é uma espécie polífaga, semiendoparasita, amplamente disseminada nas regiões tropicais e subtropicais (ROBINSON et al., 1997). Predominam em solos siltosos ou argilosos e necessitam de densidades populacionais mais elevadas do que o nematóide de galha para causar perdas (SUASSUNA et al., 2008). Possui tolerância ao estresse hídrico, por um mecanismo de anidrobiose com maior capacidade de suportar a dessecação em relação a outras espécies (TORRES et al., 2006). O nematóide reniforme em algodoeiro está associado a sintomas de pequeno crescimento das plantas, clorose semelhante a virose do mosaico e baixa produção, além de atraso na maturação e reduções no tamanho e porcentagem de fibras (TIHOHOD, 1993). Os sintomas, muitas vezes, são confundidos com outras causas como compactação do solo e deficiência nutricional (ROBINSON et al., 1997; STARR, 1998). As fêmeas imaturas, vermiformes, constituem-se no único estágio infectivo. Estas penetram nas raízes até atingirem o periciclo, parênquima vascular e, por vezes, o floema, por meio da dissolução parcial das paredes celulares. A partir de então, o nematóide torna-se sedentário e a parte posterior do corpo, fora das raízes, aumenta de tamanho. Adquire, pois, a forma de um rim, razão pela qual essa espécie é conhecida como nematóide reniforme (FERRAZ; MONTEIRO, 2011).

2.5.2 Nematóide das lesões

O nematóide das lesões do algodoeiro, *P. brachyurus*, é uma espécie que ocorre associada a diversas plantas cultivadas e que, no Brasil, causa perdas às culturas de abacaxi, algodão, batata, café, caupi, feijão, quiabo e soja (SUASSUNA et al., 2008). Esses nematoides são migradores, ou seja, apresentam grande mobilidade e se alimentam de células do córtex das raízes, ocasionando o escurecimento dos tecidos parasitados (ZAMBIASI et al., 2007). Diferentemente dos outros nematoides relatados, a fêmea e todas as fases juvenis são vermiformes e móveis. Nas raízes de algodoeiro, eles invadem o parênquima cortical e produzem extensas áreas necróticas. Isto causa sérias perdas econômicas (MACHADO; OLIVEIRA, 2007). O sintoma típico de *P. brachyurus* em algodoeiro é o escurecimento das raízes, que se destaca quando ocorre densidade alta do patógeno, que resulta em menor desenvolvimento da parte aérea do algodoeiro (INOMOTO et al., 2007).

As lesões radiculares, que são os sintomas típicos causados pelos nematoides desse gênero, são o resultado da coalescência das galerias produzidas por vários nematoides. Normalmente, os ovos são depositados no interior das galerias e os juvenis de segundo estágio (J2), os quais eclodem do ovo, bem como os de terceiro e quarto estágios, são vermiformes e diferem entre si somente pelo tamanho. Com a última troca de pele, o juvenil de quarto estágio se torna uma fêmea. Como tal processo ocorre no interior das raízes, *P. brachyurus* é tipicamente um nematóide endoparasita (SUASSUNA et al., 2008).

2.6 Alterações Fisiológicas das Plantas Atacadas por Nematóides

O parasitismo do nematóide caracteriza-se pela criação de sítios permanentes de alimentação, constituídos de células gigantes no córtex, endoderme, periciclo e parênquima do algodoeiro. Estes sítios de alimentação tornam-se drenos para os fotoassimilados. Portanto, eles prejudicam o crescimento e desenvolvimento vegetal (VOVLAS et al., 2005). Consequentemente resultam em redução do tamanho e ineficiência do sistema radicular. Além disso, os nematoides ao penetrarem e se movimentarem, provocam danos mecânicos como o bloqueio de tecidos vasculares nos sítios de alimentação. Desta maneira, limitam a translocação

de água e nutrientes, reprimindo o crescimento das plantas e assim o rendimento das culturas (HUSSEY; WILLIAMSON, 1998).

Zimmerman e McDonough (1978) demonstram que a infecção de nematoides nas raízes causa mudanças anatômicas, as quais podem ocasionar alterações desde a absorção de água ao transporte de nutrientes, além de diminuição da área foliar, deficiência mineral, murchamento temporário durante o período mais quente do dia e baixa produtividade. Segundo Gonçalves et al. (1995), o aumento da divisão celular no córtex da raiz origina o sintoma conhecido como galhas, principalmente em raízes secundárias.

Uma vez que os nutrientes absorvidos pelas raízes são levados para a parte aérea via xilema, seria esperado que qualquer alteração no fluxo de água pudesse também acarretar deficiência de minerais. Além disso, dependendo do nematoide e da população que esteja colonizando as raízes de uma planta, pode haver redução na absorção de nutrientes pela própria redução do sistema radicular, como também pela disfunção ocasionada nele. Como consequência, isso deveria levar à redução do crescimento das plantas (MACDONALD, 1979).

Muitos são os tipos de estresse que as plantas podem enfrentar, como variações na temperatura, umidade, radiação solar, ataque de patógenos, entre outros. Com isto, as plantas conseguem mudar a constituição de compostos moleculares como mecanismo de resposta e, em algumas situações, essas alterações podem estar ligadas com a proteção e a defesa (DE WIT, 2007). As defesas vegetais podem ser classificadas como estruturais, baseadas em características anatômicas e químicas quando associadas a compostos biologicamente ativos de massa molecular variada (SHEWRY; LUCAS, 1997). Nas substâncias relacionadas a defesa química, destacam-se aminoácidos não proteicos, alcaloides, fenóis, saponinas, lectinas, quitinases, glucanases, flavonoides, inibidores de protease e alérgenos (XAVIER-FILHO, 1993). Entre elas, estão as proteínas relacionadas à patogênese, as quais podem ser induzidas em resposta à infecção, dano ou predação que, por sua vez, são subdivididos em diversos grupos quitinases, peroxidases, etc (DE WIT, 2007).

A prolina é um composto orgânico não glutâmico que contribui na osmoregulação dos tecidos vegetais submetidos ao estresse hídrico (LAWLOR; LEACH, 1985). Este aminoácido é encontrado nos tecidos das plantas submetidas ao estresse hídrico (TURNER; STEWART, 1986). A acumulação pode resultar

através de sua síntese a partir, do ácido glutâmico, da inibição de sua oxidação e, também, da diminuição da síntese ou aumento da degradação das proteínas (KRAMER, 1983).

Conforme Doney et al. (1970), os nematoides induzem estresses em beterrabas. Isso se deve ao aumento de aminoácidos livres na seiva das plantas. Ghasempour et al. (2007) afirma que a presença de nematoides no solo e posterior infecção das raízes pelo parasita pode levar ao estresse. Isto produz resultados de forma análoga ao efeito de ausência de água, proporcionando aumentos dos teores de prolina na beterraba.

Muitas enzimas de plantas estão envolvidas em reações de defesa contra fitopatógenos, incluindo enzimas oxidativas, tais como peroxidase e polifenol oxidase (CHEN et al., 2000). A atividade de peroxidase está relacionada com a infestação do nematoide como parte da resistência da planta (KATSANTONIS et al., 2005).

2.7 Formas de Controle de Nematoides

2.7.1 Controle químico

Nas últimas décadas podem ser destacados três os nematicidas recomendados e registrados para o controle do nematoide: aldicarbe, carbofurano, terbufós (LORDELLO et al., 1984; OLIVEIRA; KUBO, 1999). Em 2005, uma formulação a base de abamectina (Avicta 500 FS) foi comercializada como tratamento de sementes, visando controle de danos de nematoides em algodoeiro (MONFORT et al., 2006). O tratamento de sementes com abamectina tem sido importante para controlar *M. incognita* e *R. reniformis* em algodoeiro e aumentar rendimentos em áreas infestadas por nematoides (PHIPPS et al., 2005).

A escolha de um produto depende do tipo de sistema de produção utilizado, ainda que todos sejam aplicados em dosagens altas. Embora frequentemente se obtenham ganhos em rendimentos de algodão, não raro a população final do nematoide se mantém igual ou, até mesmo, aumenta ao final do ciclo da cultura (LORDELLO et al., 1984; OLIVEIRA; KUBO, 1999).

2.7.2 Cultivares resistentes

A resistência da planta ao patógeno refere-se à limitação da planta em relação à reprodução do nematoide, enquanto a tolerância da planta ao nematoide faz referência à capacidade da planta de se desenvolver, apesar da sua infecção (ASMUS e INOMOTO, 2007). Uma alternativa de menor custo, menor impacto ambiental e grande facilidade para o produtor utilizar é a utilização de variedade tolerante ou resistente a estes patógenos (LIMA; VIEIRA, 1999).

Infelizmente, as variedades comerciais disponíveis em uso no país não apresentam níveis aceitáveis de resistência. Como alternativa a ausência de cultivares resistentes, tem-se procurado identificar cultivares mais tolerantes a *R. reniformis*. Das cultivares em uso no cerrado, FMT 701, BRS Cedro e, em menor grau, DeltaOpal e Makina, apresentam tolerância de campo ao nematoide, exceções feitas a IAC 23 e IAC 24, que, entretanto, não são recomendados para cerrado (ASMUS; INOMOTO, 2007). Recentemente foi lançada a cultivar IAC 25, resistente a nematoides e que pode ser promissora para o cultivo em áreas infestadas (GALBIERI et al., 2009).

2.7.3 Controle biológico com *Bacillus subtilis*

Microorganismos da rizosfera, conhecidos como rizobactérias, proporcionam defesa contra o ataque de patógenos de solo em plantas (WELLER, 1988). Algumas espécies de microorganismos deste grupo são capazes de promover proteção substancial contra nematoses (SIDDIQUI et al., 2001). Entre elas destaca-se *B. subtilis*, já relatada como antagonista de nematoides formadores de galhas, podendo ser utilizada no manejo de culturas econômicas, com o intuito de reduzir os efeitos deletérios do parasita (LI et al., 2005 ; CARDOSO; ARAUJO, 2011). Outros efeitos benéficos como, por exemplo, a promoção de crescimento das plantas e a solubilização de nutrientes, são encontrados pela ação de *B. subtilis* na rizosfera das plantas.

Bacillus spp. foi avaliada dentro de uma grande variedade de espécies de plantas com vários relatos de sua habilidade no controle de doenças (COOK; BAKER, 1983). A maioria dos trabalhos com a utilização de isolados do gênero *Bacillus* na agricultura tem sido relacionada ao controle biológico de fungos

fitopatogênicos (BETTIOL, 1991) os quais têm sido atribuídos com frequência à produção de antibióticos (ARAÚJO et al., 2005b).

Apesar da existência de relatos sobre espécies de *Bacillus* que proporcionam controle de nematoides (ARAÚJO et al., 2002; TIAN et al., 2000), o volume de trabalhos divulgados é muito inferior ao já publicado com a bactéria no controle biológico de fungos fitopatogênicos (SIDDIQUI; SHAUKAT, 2002).

De acordo com Araújo et al. (2008), os mecanismos de ação responsáveis pela promoção de crescimento em plantas podem estar ligados inicialmente à inibição direta do patógeno e pela indução de resistência sistêmica, entre outras. Muitas vezes é difícil reconhecer os mecanismos e relacioná-los à promoção direta de crescimento, visto que mais de um mecanismo é produzido pela bactéria.

3 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Rotylenchulus reniformis*, o desenvolvimento e alterações fisiológicas de três genótipos de algodoeiro (IAC 25, Deltaopal e Nuopal) em solos infestados com nematoides em função do tratamento de sementes com nematicida químico (abamectina) e *Bacillus subtilis*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em condições de casa de vegetação no período de Janeiro a Julho de 2011. As amostras de solo utilizadas no experimento foram coletadas em áreas de cultivo de algodoeiro nos municípios de Luiz Eduardo Magalhães (12°09'40" S e 44°59'76" W) e São Desidério (11°31'21" S e 45°58'52" W) situados na região oeste do estado da Bahia. Os atributos de fertilidade dos solos apresentaram os seguintes resultados: pH (CaCl₂)= 5,1; Al(mmolc dm⁻³) = 0; Matéria orgânica (g dm⁻³) = 17; P(mg dm⁻³) = 30,6; K(mmolc dm⁻³)= 0,4; Ca (mmolc dm⁻³) = 22,0; e V(%)= 47,30 (amostra de Luiz Eduardo Magalhães) e pH (CaCl₂)= 5,8; Al (mmolc dm⁻³) = 0; Matéria orgânica (g dm⁻³) = 18; P (mg dm⁻³) = 29,2; K (mmolc dm⁻³)= 1,0; Ca (mmolc dm⁻³) = 18,0; e V(%)= 57,7 (amostra de São Desidério). Na Tabela 1, consta a quantificação de nematoides em cada amostra de acordo com a análise feita pelo método de Coolen e D'Herde (1972).

TABELA 1- Análise de nematoides nos locais onde foram coletadas as amostras de solo. Valores em números de formas ativas por 100 cm³ de solo.

Local da amostra	Código	<i>P. brachyurus</i>	<i>R. reniformis</i>
Luiz Eduardo Magalhães	L1	04	16
São Desidério	L2	96	6048

O experimento foi conduzido em vasos de cerâmica com capacidade de 10 kg de solo. Foram utilizados os genótipos de algodoeiro IAC 25, Deltaopal e Nuopal, sendo o IAC 25 caracterizado como resistente às principais espécies de nematoides (GALBIERI et al., 2009). As sementes dos três genótipos foram submetidas a tratamentos com nematicida abamectina (produto comercial Avicta[®]) na dosagem de 3,0 mL do produto comercial por kg de sementes. Após a homogeneização do produto com as sementes, foi efetivada a semeadura (5 sementes por vaso). Para o tratamento biológico das sementes, foi utilizado a estirpe AP-3 de *B. subtilis*, descrita como promotora de crescimento de plantas (ARAÚJO et al., 2005b) e com ação antagonista a nematoides (ARAÚJO; MARCHESI, 2009). A rizobactéria qual foi multiplicada previamente por sete dias, a 28^oC em meio sólido (ágar nutriente). Depois deste período, as células foram raspadas para a obtenção do material e transferidas para 10 mL de água esterilizada e submetidas à agitação

com o auxílio de vortex® objetivo de tornar completa a dispersão da bactéria. Em seguida, foi realizada a leitura da suspensão em espectrofotômetro na faixa de 540 nanômetros calibrando-se para o valor 1,0 de absorvância que equivale à concentração de $5,0 \times 10^8$ bactérias por mL. Para o tratamento biológico, foi aplicado 1,0 mL da suspensão bacteriana sobre cada semente na cova de semeadura efetuada no solo.

O delineamento experimental empregado foi de blocos inteiramente casualizados com distribuição em arranjo fatorial de três genótipos, três tratamentos (*B. subtilis*, abamectina e controle) e dois locais de coleta dos solos e quatro repetições, totalizando-se em 72 parcelas.

4.1 Avaliações de Crescimento da Planta e Infestação de Nematoides

As plantas foram conduzidas até o estágio C2 (a primeira maçã do segundo ramo se abre, transformando-se em capulho) durante 60 dias em casa de vegetação com reposição periódica da umidade do solo para próximo da capacidade de campo. Após este período, as plantas foram coletadas cuidadosamente separando-se a parte aérea das raízes, além de serem coletadas as amostras de solo dos vasos. A parte aérea foi secada em estufa (60° C) até a obtenção de peso constante e posteriormente pesada, enquanto as raízes frescas foram lavadas rapidamente em água corrente e deixadas secar sobre papel absorvente durante quatro horas. Em seguida, foram pesadas e submetidas aos procedimentos de trituração e extração de ovos e formas ativas de nematoides, segundo Coolen e D'Herde (1972). Após a contagem dos ovos e formas ativas de cada espécie de nematoide os resultados foram expressos em ovos e juvenis por g de raiz⁻¹. Para extração de nematoides e ovos nas amostras de solo, coletados em cada vaso no final do experimento, foi utilizada a metodologia de Jenkins (1964) e os resultados foram expressos em número totais de formas ativas e ovos por 100 cm³ de solo.

4.2 Análise de Prolina

Para efetivação da análise de concentração de prolina livre no tecido foliar, foi utilizada a metodologia descrita por Bates et al. (1973), na qual 300 mg de tecido foliar da parte aérea foi retirado aos 45 dias depois da emergência das

plantas no terço médio das folhas. Após isto, o material foi macerado em 10 mL de ácido sulfosalicílico a 3%. Realizou-se a filtração do material e 2 mL do filtrado obtido foi colocado em tubo de ensaio com 2 mL de ninidrina ácida mais 2 mL de ácido acético glacial. As amostras foram mantidas em banho maria por 1 hora. Em seguida, a solução foi resfriada em banho de gelo para, depois, ser realizada a leitura no espectrofotômetro a 520 nm. As leituras foram feitas em triplicata.

4.3 Análise de Atividade da Guaiacol peroxidase

Para a análise de atividade da peroxidase, de acordo com a metodologia descrita por Araujo et al. (2005a), aos 45 dias de cultivo, amostras de 100 mg de tecido foliar foram coletados da parte aérea. Posteriormente foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato de sódio ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0. Em seguida, foram centrifugadas a 20.000 g, por 25 min a 4°C . A atividade da peroxidase foi medida pela adição de 0,1 mL do sobrenadante em 2,9 mL de tampão fosfato contendo guaiacol e água oxigenada. A leitura de absorvância foi feita em espectrofotômetro a 470 nm e a atividade enzimática foi expressa em $A_{470} \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ da amostra fresca.

4.4 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando significativas as medias foram comparadas pelo teste Tukey (5%) de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores foliares de prolina mostraram que os genótipos cultivados no solo L2 (São Desidério), onde se encontrava a maior infestação de nematoides (Tabela 1), apresentaram os maiores valores desse aminoácido quando comparados ao solo L1 (Luis Eduardo Magalhães) (Figura 01). Esse resultado consolida o que é relatado por Ghasempour et al. (2007) de que a presença de *Heterodera schachtii* (Schmidt) no solo e posterior infecção das raízes pelo parasita pode funcionar como fator estressante, atuando de forma similar ao efeito de falta de água na planta. Isto proporciona aumento nos teores de prolina na beterraba. Doney et al. (1970) também relataram que o *H. schachtii* induzem estresse nas plantas, e isto está associado ao aumento de aminoácidos livres na seiva da beterraba. Proporciona-se, assim, um efeito similar a análise apresentada.

Na comparação entre os genótipos de algodoeiro avaliados, observou-se que o Deltaopal apresentou no tratamento controle os maiores teores de prolina em comparação aos genótipos IAC 25 e Nuopal nos dois níveis de infestação, correspondentes aos locais L1 e L2 (Figura 1). Doney et al. (1970), ao avaliar a concentração de aminoácidos livres em genótipos de beterraba susceptíveis e resistentes, cultivadas em solo infestado por *H. schachtii*, encontraram concentrações mais baixas de prolina nas plantas resistentes. Verificou-se, no caso do presente estudo, que o genótipo IAC 25, indicado como resistente a *M. incognita*, apresentou valores menores de prolina na maioria dos tratamentos. Como resultado, houve um efeito idêntico ao *P. brachyurus* e *R. reniformis*.

O genótipo Nuopal, quando tratado com *B. subtilis* ou abamectina, apresentou teores foliares de prolina superiores ao controle nos dois locais avaliados. Logo, isto indica que pode ter ocorrido algum estresse na planta decorrente dos tratamentos efetuados. Os aumentos dos teores de prolina também foram detectados em tomateiros, tratados previamente com rizobactérias e cultivados em solo infestado com nematoides. É necessário salientar que as plantas tratadas apresentaram maior envitância aos nematoides (ANITA et al. 2006), do mesmo modo que foram encontrados aumentos nos teores do aminoácido decorrentes do uso de nematicida químico em cana-de-açúcar cultivada em solo infestado com nematoides (SHOWLER et al., 1991).

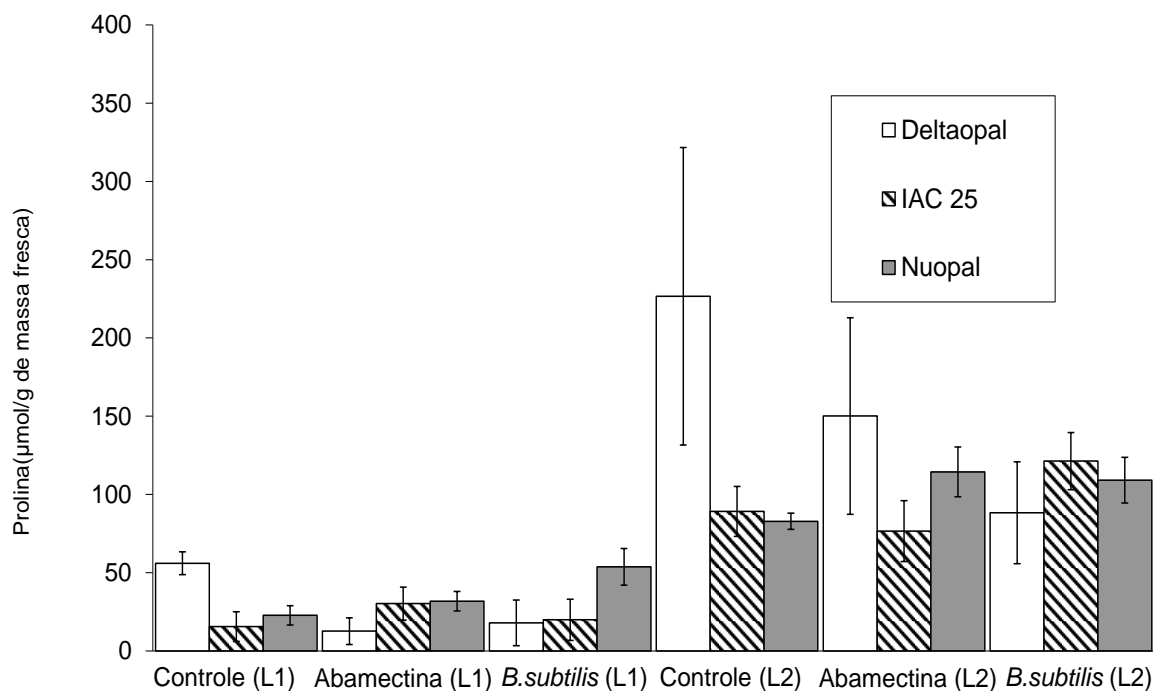


FIGURA 01- Teor de prolina em folhas de algodoeiro em função dos tratamentos com abamectina e *B. subtilis* em três genótipos (Deltaopal, IAC 25 e Nuopal) cultivados em dois solos de localidades diferentes: L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério.

O genótipo IAC 25 no tratamento controle, quando cultivado no solo com maior infestação de nematoides (L2), apresentou maior atividade da peroxidase ao ser comparado ao cultivo no solo com menor infestação (Figura 2). Está evidenciado na literatura que a atividade da peroxidase é relacionada à infecção do nematoide como parte da resistência da planta (KATSANTONIS et al., 2005). Isto reforça a característica de resistência a nematoides indicada no genótipo IAC 25. Foi observado, também, que apenas o genótipo Deltaopal apresentou baixa atividade de peroxidase em alguns tratamentos comparando-se com outros genótipos. Noel e McClure (1978) afirmaram que genótipos de algodoeiro mais susceptíveis a nematoses foram caracterizados como de baixa atividade de peroxidase.

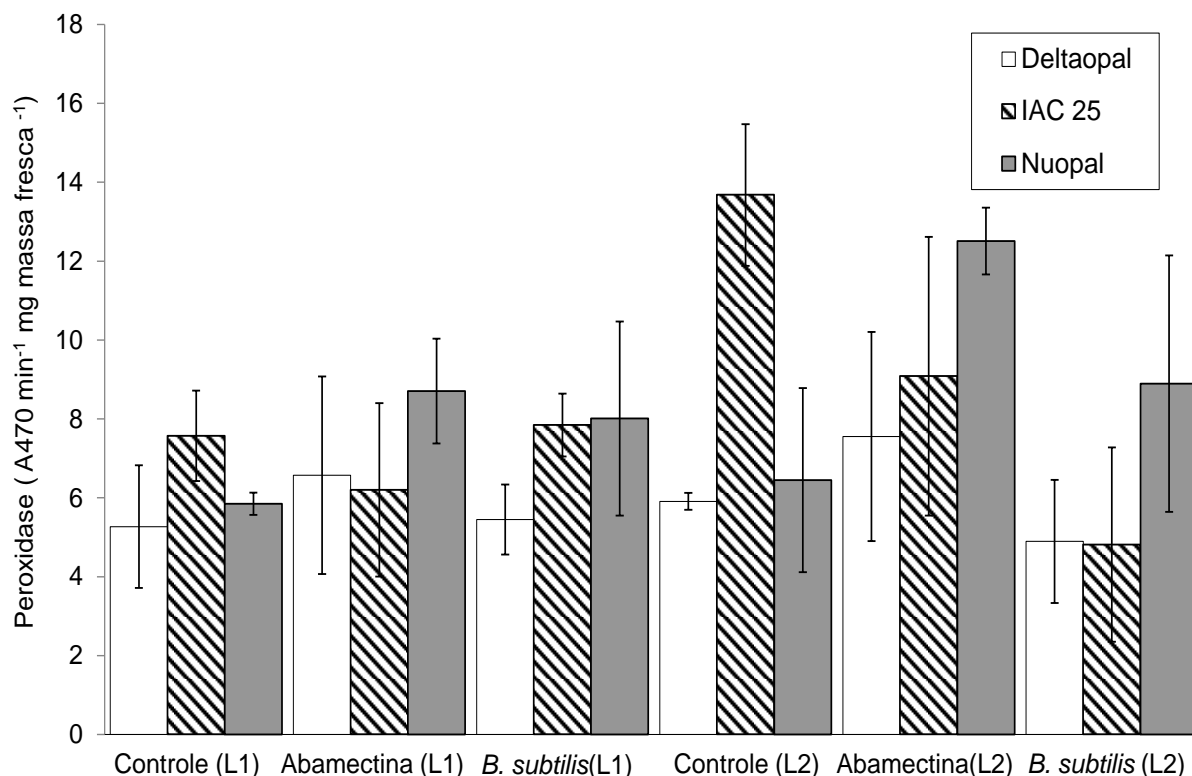


FIGURA 02- Atividade de peroxidase em folhas de algodoeiro em função dos tratamentos com Abamectina e *B. subtilis* em três genótipos (Deltaopal, IAC 25 e Nuopal) cultivados em dois solos de localidades diferentes: L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério.

Na avaliação de crescimento das plantas, considerando a média dos dois locais avaliados, observou-se no genótipo IAC 25 o aumento da massa fresca das raízes e a massa seca da parte aérea, ao serem tratados previamente com *B. subtilis*. Enquanto isso, o cultivar Nuopal apresentou maior massa de raízes quando tratado com abamectina (Tabela 2). Destaca-se, também, a interação que ocorreu entre IAC 25 e *B. subtilis*, visto que esse genótipo apresentou as maiores massas de raízes e parte aérea ao ser tratado com a bactéria, fato que não ocorreu nos outros tratamentos.

Analisando-se separadamente cada local de origem do solo, verificou-se que houve redução no crescimento das plantas no tratamento controle para o local com maior infestação de nematoides (Tabela 3). Contudo, ocorreram diferenças no desempenho dos tratamentos em cada local. Entre tais diferenças, destacam-se o *B. subtilis* com resposta significativa para crescimento da parte aérea

no solo com maior infestação de nematoides (L2) e o tratamento com abamectina no crescimento das raízes do algodoeiro no solo com menor infestação de nematoides (L1).

Segundo Calzavara et al. (2008), os danos fisiológicos e mecânicos provocados pelos nematoides levam à redução do crescimento das plantas em áreas infestadas. Em alguns casos, apesar da existência do controle de nematoides pelo uso do nematicida, podem não ser encontradas diferenças na produção de massa seca na parte aérea do algodoeiro (CABRERA et al., 2009). Entretanto, o tratamento com *B. subtilis* proporciona maior crescimento da parte aérea no algodoeiro cultivado no solo com maior infestação de nematoides (Tabela 03). No que diz respeito ao controle biológico, a inoculação de sementes com *B. subtilis* incrementou o crescimento do algodoeiro quando cultivado em solo infestado com *Meloidogyne* spp. (HIGAKI; ARAÚJO, 2010).

TABELA 02- Médias da massa fresca das raízes e massa seca da parte aérea do algodoeiro para os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina efetivado em três genótipos cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides (*R. reniformis* e *P. brachyurus*).

Tratamentos	M. fresca das raízes (g/planta)			M. seca Parte aérea (g/planta)		
	Deltaopal	IAC 25	Nuopal	Deltaopal	IAC 25	Nuopal
<i>B. subtilis</i>	6,90 aA	7,34 aA	3,28 bB	3,38 aB	4,95 aA	4,15 aAB
Abamectina	6,30 aA	6,06 abA	6,10 aA	3,55 aA	4,25 abA	4,50 aA
Controle	4,98 aA	3,38 bA	4,95 abA	3,42 aA	3,20 bA	4,10 aA

Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha indicam a diferença ao nível de 5%, no teste de Tukey.

TABELA 03- Médias da massa fresca da raiz e massa seca da parte aérea de algodoeiro para os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina efetivados em três genótipos cultivado em função do local de coleta do solo (L1, L2) utilizado no experimento.

Tratamentos	M. fresca das raízes (g/planta)		M. seca parte aérea (g/planta)	
	L1	L2	L1	L2
<i>B. subtilis</i>	6,48 ab	5,19 a	3,85 a	4,48 b
Abamectina	7,67 b	4,64 a	4,20 a	4,01 ab
Controle	5,31 a	3,82 a	4,11 a	3,04 a

Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha indicam a diferença ao nível de 5%, no teste de Tukey. L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério

Na avaliação média nos dois locais estudados, verificou-se redução significativa da população de *R. reniformis* nas raízes de algodoeiro apenas no genótipo IAC 25 quando tratado com *B. subtilis* e abamectina (Tabela 4). Além disso, pode-se observar que o genótipo IAC 25 sem tratamento, não apresentou redução na presença de *R. reniformis* nas raízes quando comparado aos genótipos suscetíveis. Conforme Anter (1995), o *Bacillus sp.* reduz as populações de *R. reniformis* na cultura do algodoeiro ao nível alcançado pelo uso de nematicidas. Constata-se, também, por Lovato et al. (2007) que, para o *R. reniformis*, a abamectina utilizada no tratamento de sementes apresentou controle eficaz do parasita em casa de vegetação. Com relação ao *P. brachyurus*, apenas no genótipo Deltaopal observou-se que os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina proporcionaram reduções significativas do número de formas ativas nas raízes.

TABELA 04- Médias do número de nematoides nas raízes de algodoeiro para tratamentos com *B. subtilis* e abamectina efetuados em três genótipos cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides.

Tratamentos	<i>R. reniformis</i> (formas ativas g raiz ⁻¹)			<i>P. brachyurus</i> (formas ativas g raiz ⁻¹)		
	Deltaopal	IAC 25	Nuopal	Deltaopal	IAC 25	Nuopal
<i>B. subtilis</i>	25,09 aB	16,51 bB	62,42 abA	42,02 bA	46,05 aA	26,69 bA
Abamectina	25,60 aAB	18,54 bB	42,72 bA	46,63 bAB	55,62 aA	25,51 bB
Controle	51,68 aA	60,28 aA	82,84 aA	80,45 aA	50,02 aB	62,17 aAB

Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha indicam a diferença ao nível de 5%, no teste de Tukey.

Os tratamentos com *B. subtilis* ou abamectina foram efetivos para reduzir a infestação de nematoides nas raízes do algodoeiro no local L2 (Tabela 5), no qual havia maior infestação de *R. reniformis* e *P. brachyurus*, de acordo com que foi constatado previamente (Tabela 1). Isso demonstra o potencial para o uso desse tipo de controle em locais com maiores níveis de infestação.

TABELA 05. Médias do número total de nematoides nas raízes de algodoeiro para os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina efetuados em três genótipos cultivados em solos naturalmente infestados com nematoides.

Tratamentos	<i>R. reniformis</i> (formas ativas g raiz ⁻¹)		<i>P. brachyurus</i> (formas ativa g raiz ⁻¹)	
	L1	L2	L1	L2
<i>B. subtilis</i>	15,48 a	53,87 b	32,55 a	43,96 b
Abamectina	16,96 a	40,94 b	29,00 a	56,17 b
Controle	26,96 a	102,90 a	44,15 a	84,27 a

Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha indicam a diferença ao nível de 5%, no teste de Tukey. L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério

Nota-se, ao observar a tabela 6, que ocorreu baixo efeito dos tratamentos químico e biológico na redução de formas ativas de nematoides no solo na média dos dois locais avaliados no final do experimento. Apenas no genótipo Deltaopal os tratamentos efetuados nas sementes reduziram significativamente o número de formas ativas no solo em relação ao controle. Porém, verificou-se que o controle de formas ativas no solo ocorreu quando foram aplicados os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina no algodoeiro cultivado no solo com maior infestação de nematoides (Tabela 7). Isto sugere que esses tratamentos são mais indicados para locais com maior infestação de nematoides no solo.

TABELA 06. Médias do número de formas ativas de nematoides no solo para os tratamentos com *B. subtilis* e abamectina efetivado em três genótipos de algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados com nematoides (*R. reniformis* e *P. brachyurus*).

Tratamentos	Formas ativas 100 cm ³ solo ⁻¹		
	Deltaopal	IAC 25	Nuopal
<i>B. subtilis</i>	200 bA	160 aA	200 aA
Abamectina	190 bA	160 aA	180 aA
Controle	290 aA	170 aB	250 aAB

Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha indicam a diferença ao nível de 5%, no teste de Tukey.

TABELA 07. Médias do número de formas ativas de nematoides (*R. reniformis* e *P. brachyurus*) no solo para tratamentos com *B. subtilis* e abamectina efetivado em três genótipos de algodoeiro em função do local de coleta do solo utilizado no experimento.

Tratamentos	Formas ativas 100 cm ³ solo ⁻¹	
	L1	L2
<i>B. subtilis</i>	166 a	206 b
Abamectina	140 a	213 b
Controle	153 a	320 a

Letras minúsculas na coluna indicam a diferença ao nível de 5%, no teste de Tukey.
L1= Luis Eduardo Magalhães; L2= São Desidério

Maciel e Ferraz (1996) relataram que o controle biológico de nematoides pode acontecer por meio da paralisação do ciclo ou, pelo menos pela redução da capacidade reprodutiva do parasita. Concomitante a esta idéia, Freitas (2001) afirma que a transformação dos exsudatos radiculares em subprodutos pela ação dos microorganismos pode fazer com que o nematoide não reconheça o estímulo quimiotrópico e continue movimentando-se no solo até morrer. Relatou-se, também, que o controle possa ocorrer de três maneiras: pela indução sistêmica de resistência nas plantas mediada pela bactéria no solo (ENEBAK; CAREY, 2000); produção de proteases que degradam a cutícula dos nematoides e interferem no ciclo do parasita (LIAN et al., 2007); é possível utilização dos nematoides e seus ovos como fonte de alimento para a bactéria (KHAN et al., 2005).

A avaliação de prolina nas folhas do algodoeiro mostrou-se útil para indicar mudança fisiológica nas plantas atacadas pelos nematoides, pois no local com maior presença do parasita os valores da prolina foram altos na maioria dos genótipos avaliados. Também foram indicados, em alguns genótipos, alterações condicionadas pelos tratamentos químico ou biológico. Isso confirma o que é sugerido por Grote e Claussen (2001) sobre o uso da prolina como biomarcador para estresses induzidos por fatores bióticos e abióticos. Além disso, a análise da peroxidase mostrou que essa enzima está relacionada com a resistência da planta, um vez que o genótipo IAC 25 apresentou atividade enzimática significativamente maior do que os outros genótipos ao ser cultivado no solo com maior infestação de nematoides. Em solos infestados com nematoides, a atividade da peroxidase chega a dobrar em genótipos resistentes ao serem comparados com os susceptíveis (ZACHEO et al., 1993).

O controle biológico de nematoides em algodoeiro ainda é pouco usado na agricultura mundial, ressaltando que nos Estados Unidos foi relatado há alguns anos atrás que essa técnica ainda não era praticada no manejo desses parasitas (ROBINSON, 2007). Nematicidas garantem a manutenção da produtividade reduzindo os danos dos nematoides nas raízes (KOENNING et al., 2007). No entanto, esta prática está atrelada a efeitos ambientais e toxicológicos (KOENNING et al., 2004). Faz-se necessária a redução do impacto do controle de nematoides com novas estratégias, como o controle biológico, o qual pode ser incorporado ao manejo integrado do parasita. Foi comprovado que a utilização de *B. subtilis* para o controle dos nematoides em algodoeiro mostrou-se muito promissora, sendo possível a sua inclusão em estratégias de controle na cultura. A rizobactéria conseguiu controlar os nematoides mais severos para a cultura do algodoeiro confirmando o que já se havia encontrado em outros estudos com outras espécies bacterianas biocontroladoras de *R. reniformis* em algodoeiro (SCHMIDT et al., 2010; JAYAKUMAR et al., 2004). Apesar de existirem poucos estudos nessa área, o controle biológico de *P. brachyurus* por rizobactérias já foi relatado na literatura (GONZAGA; SANTOS, 2008), mostrando-se como viável para uso na agricultura.

O uso da abamectina como tratamento de sementes é eficiente apenas para reduzir a infestação inicial de nematoides no solo (CABRERA et al., 2009). Dessa forma, o uso do controle biológico pode levar vantagem sobre o controle químico pela possibilidade de maior persistência da bactéria na rizosfera. Para controlar nematoides em cana-de-açúcar, já foi observado que o controle biológico com *B. subtilis* apresentou-se como persistente e eficaz na redução do parasita do solo durante o ciclo de crescimento da cultura (CARDOSO; ARAUJO, 2011). Os ganhos no crescimento da planta e no controle de nematoides encontrados no genótipo IAC 25 de algodoeiro, quando inoculados com *B. subtilis*, sugerem que a junção dos métodos da resistência genética com o controle biológico é promissora no manejo integrado de nematoides.

6 CONCLUSÕES

A hipótese de que *Bacillus subtilis* possa atuar de forma eficaz no controle dos nematoides (*Rotylenchus reniformes* e *Pratylenchus brachyurus*) no cultivo do algodoeiro, avaliados neste estudo, foi confirmada. Além disso, foi comprovado que o tratamento com *B. subtilis* equivale à eficiência de controle com o uso do nematicida convencional. Os genótipos de algodoeiro responderam de forma diferente aos tratamentos efetuados para controle dos nematoides. A avaliação da prolina apresentou resultados promissores para uso como indicador de estresse relacionado à infestação de nematoides em algodoeiro.

REFERÊNCIAS

- ABAPA - ASSOCIAÇÃO BAIANA DOS PRODUTORES DE ALGODÃO. **Algodão**. Disponível em: <<http://www.abapaba.org.br/noticia/3587/>>. Acesso em: 21 jul. 2011.
- AIBA - ASSOCIAÇÃO DE IRRIGANTES DA BAHIA. **Algodão**. Disponível em: <<http://www.aiba.org.br/index.php?id=algodao>>. Acesso em: 02 mar. 2009.
- ANITA, B.; RAJENDRAN, G.; SAMIYAPPAN, R. Defence mechanism in tomato treated with *Pseudomonas fluorescens* migula against *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, v. 12, p. 63-66, 2006.
- ANTER, E. A.; ABD ELGAWAD, M. M.; ALI A. H. Effects of fenamiphos and biocontrol agents on cotton growing in nematode-infested soil. **Anzeiger fuer Schaedlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz**, v. 68, n. 1, p.12-4, 1995.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DO ALGODÃO. Santa Cruz do Sul, RS: Gazeta, 2010. 71p.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.; CARDOSO, P. F. Composto de iodo têxtil em plântulas de soja e trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 6, p. 549-554, 2005a.
- ARAÚJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **Word Journal of Microbiology & Biotechnology, Dordrecht**, v. 21, p. 1639-1645, 2005b.
- ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 2, p. 456-462, 2008.
- ARAÚJO, F. F.; MARCHESE, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p.1558-1561, 2009.
- ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. S. F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, v.32, p. 197-202, 2002.
- ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M. Manejo de nematoides. In: FREIRE, E. C. **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília DF, 2007. p. 551-576
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil**, Netherlands, v. 39, n. 2, p. 205-207, 1973.
- BELTRÃO, N. E. M.; AZEVEDO, D. M. P. Economia. In: **O agronegócio do algodão no Brasil**. Brasília-DF: EMBRAPA, 2008. p. 13-28.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1991. p. 452

CABRERA, J. A. et al. Efficacy of abamectin seed treatment on *Pratylenchus zaeae*, *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 3, n. 116, p. 124-128, 2009.

CALZAVARA, S. A. et al. Desenvolvimento de plantas jovens de citros infectadas por *Pratylenchus jaehni* (Nematoda: Pratylenchidae) em microparcelas. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 212-219, 2008.

CARDOSO, R. B.; ARAUJO, F. F. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da Meloidoginose em cana de açúcar. **Revista Brasileira de engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n.12, p. 1283-1288, 2011.

CARVALHO, R. J. Pragas na cultura do Algodoeiro. In: **Recomendação para a cultura do Algodoeiro do Paraná**. Londrina: IAPAR, 1996. p. 37-63

CHEN, C. et al. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 56, p. 13-23, 2000.

CHIAVEGATO, E. J.; SALVATIERRA, D. K.; GOTTARDO, L. C. B. Algodão. In: MONTEIRO, J. E. B. A. (Org.). **Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Instituto Nacional de Meteorologia, 2009. Cap. 1, p. 35-49

CIA, E.; FUZATTO, G. M. Manejo de doenças na cultura do algodoeiro. Saénz Pena, Chaco-Argentina, 1997. 3p. In: **Cultura do Algodoeiro**. Piracicaba: POTAFÓS, 1999.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St Paul: American Phytopathological Society, 1983. p. 539

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

CRAVEN, L. A. et al. The Australian wild species of *Gossypium*. In: WORLD COTTON RESEARCH CONFERENCE, 1., 1994, Brisbane, Australia. Challenging the future: **Proceedings...**1994. p. 278-281.

DE WIT, P. J. How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and Molecular Life Science**, v. 64, n. 21, p. 2726-2732, 2007.

DONEY, D. L.; LIFE, J. M.; WHITNEY, E. D. The effect of the sugarbeet nematode *Heterodera schachtii* on the free amino acids in resistant and susceptible beta species. **Phytopathology**, v. 60, n. 12, p. 1727-1729, 1970.

DONG, L. Q.; ZHANG, K. Q. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant soil**, v. 288, n. 1, p. 31-45, 2006.

ENEBAK, S. A.; CAREY, W. A. Evidence for induced systemic protection to fusiform rust in loblolly pine by plant growth-promoting rhizobacteria. **Plant Disease**, v. 84, n. 3, p. 306-308, 2000.

FERRAZ, C. A. M.; LORDELLO, L. G. E. Interferência de nematoides em culturas de algodão. **Revista de Agricultura**, v. 36, p. 131- 138, 1961.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p.300-3005, 2011.

FREIRE, E. C. (ed.). **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília, D.F.: ABRAPA, p. 918, 2007.

FREITAS, L. G. **Rizobactérias versus nematoide**. 2001 Disponível em: <<http://www.ufv.br/dpf/labnematologia/rizo.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2010.

GALBIERI, R. et al. Reação de cultivares de algodoeiro a *Meloidogyne incognita* em condições de campo e casa de vegetação no estado de Mato Grosso. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 1, jan./feb. 2009.

GHASEMPOUR, H. R.; HOJATJALALI, A. A.; RANGIN, A R. Physiological changes, proline, total protein, protein analysis and potassium of the sugar beet plants in Response to Beet cyst Nematodes, *Heterodera schachtii*. **Journal International of Botany**, v. 3, n. 1, p 91- 96. 2007.

GONÇALVES, W. et al. Biochemical basic of coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita*. **Plantation Recherche Developement**, v. 2, n. 1, p. 54-60, 1995.

GONZAGA, V.; SANTOS, J. M. Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zae*., Brasília (DF) Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

GRIDI-PAPP, I. L. Botânica e genética. In: INSTITUTO BRASILEIRO DE POTASSA. **Cultura e adubação do algodoeiro**. São Paulo, 1965. p. 117-160

GROTE, D.; CLAUSSEN, W. Severity of root rot on tomato plants caused by *Phytophthora nicotianae* under nutrient and light stress conditions. **Plant Pathology**, v. 50, n. 6, p. 702-707, 2001.

HAMAWAKI, R. L. et al. Eficiência do parcelamento da adubação nitrogenada sobre a produtividade do algodoeiro no Oeste da Bahia, safra 2004/2005. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2007.

HIGAKI, W. A.; ARAÚJO, F. F. Parasitismo de nematoides em cultivares de algodoeiro em função do tratamento de sementes com *Bacillus subtilis*. In: ENAPI, 15., 2010. **Anais...** Presidente Prudente: Unoeste, 2010. p. 1059-1059

HUSSEY, R. S.; WILLIAMSON, V. M. Physiological and molecular aspects of nematode parasitism. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (eds). **Plant and Nematode Interactions**, 1998. p. 87-108

IBGE. **Levantamento sistemático de produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 07 jul. 2010.

INOMOTO, M. M. et al. **Nematoides**: uma ameaça à cotonicultura brasileira. [São Paulo]: Syngenta, 2007. p. 11-13.

INOMOTO, M. M. Algodão: atacado por nematoides. **Cultivar**, Pelotas, v. 3, n. 30, p. 5-7, 2001.

JAYAKUMAR, J.; RAMAKRISHNAN, S.; RAJENDRAN, G. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* strains isolated from cotton rhizosphere against *Rhizoglyphus solani*. **SAARC Journal of Agriculture**, v. 2, p. 153-156. 2004.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal – flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v. 48, p. 692, 1964.

KATSANTONIS, D.; HILLOCKS, R. J.; GOWEN, S. Enhancement of germination of spores of *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in vascular fluid from cotton plants infected with the root-knot nematode. **Phytoparasitica**, v.33, n. 3, p. 215-224, 2005.

KHAN, M. R.; KHAN, S. M.; MOHIDE, F. Root-knot nematode problem of some winter ornamental plants and its biomanagement. **Journal of Nematology**, v. 37, n. 2, p. 198-206. 2005.

KIRKPATRICK, T. L.; ROTHROCK, C. S. **Compendium of Cotton Diseases**. 2nd ed. APS Press. 2001.

KOENNING, S. R. et al. Plant-parasitic nematodes attacking cotton in the U.S.: old and emerging problems. **Plant Disease**, v. 88, n. 2, p. 100–113, 2004.

KOENNING, S. R.; MORRISON, D. E.; EDMISTEN, K. L. Relative efficacy of selected nematicides for management of *Rotylenchulus reniformis* in cotton. **Nematropica**, v. 37, n. 2, p. 227-235, 2007.

KRAMER, P. J. Drought deficits and plant growth. In: KRAMER, P. J. **Water Relations of Plants**. USA: Academic Press, 1983. p. 343-389

LAWLOR, D. W.; LEACH, J. E. Leaf growth and waterdeficits:biochemistry in relation to biophysics. In: BAKER, N. R.; DAVIES, W. J.; ONG, C. K. **Control of Leaf Growth**, Great Britain: Cambridge University Press., 1985. p. 267-294.

LI, B.; XIE, G.; SOAD, A.; COOSEMANS, J. Supression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal Zhejiang Univ SCI**, v.6, p.496-501, 2005.

LIAN, L. H. et al. Protease from Bacillus: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. **Letter in Applied Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 262-269, 2007.

LIMA, E. F.; VIEIRA, R. de M. Melhoramento do algodoeiro para resistência às doenças. In: BELTRÃO, N. E. de M. (org.) **O agronegócio do algodão no Brasil**. Brasília. EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. v.1, p. 295-314.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; SABINO, N. P. Efeito de nematicidas nos caracteres econômicos de algodoeiro cultivados em solo infestados por *Helicotylenchulus* sp. e *Rotylenchulus reniformis*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 8, p.47-55, 1984.

LOVATO, B. V. et al. Eficiência do nematicida abamectina (avicta® 500 fs) para o controle de *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) através do tratamento de sementes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia, **Anais...** Uberlândia, 2007. 1 CD-ROM.

MACDONALD, D. Some interaction of plant-parasitic nematodes and higher plants. In: Krupta, S. V. & Y. R. Domergues (eds.). **Ecology of root pathogens**, Amsterdam. p. 157-178, 1979.

MACHADO, A. C. Z.; OLIVEIRA, C. M. G. **Diagnostico molecular do nematoide das lesões *Pratylenchulus brachyurus***. 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_3/diagnostico/index.htm>. Acesso em: 15 jul. 2009.

MACIEL, S. L.; FERRAZ, L. C. C. B. Reprodução de *Meloidogne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agricola**, v.53, n. 2, p. 956-960, 1996.

MATOS, P. S.; COIMBRA, J. L.; SANTOS, F. S dos. Ocorrência de fitonematoides em plantios de algodão no oeste da Bahia. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 10, n. 2, p. 29-38, 2010.

MAUNEY, J. R. Anatomy and morphology of cultivated cottons. In: KOHEL, R. J.; LEWIS, C. F. eds. Cotton. Madison, Wisconsin: **American Society of Agronomy**, p. 59-81, 1984.

MELO, F. L. **Elementos climáticos e a evolução da ramulose (*Colletotrichumgossypii* var. *CephalosporiodesCosta*) do algodoeiro (*Gossypiumhirsutum* L. var. *latifolium*Hutch.) em condições de campo**. 2004. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MONFORT, W. S. et al. Efficacy of a novel nematicidal seed treatment against *Meloidogyne incognita* on cotton. **Journal of Nematology**, v. 38, n. 2, p. 245-249, 2006.

NOEL, G. R.; CLURE, M. A. Peroxidase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in resistant and susceptible cotton infected by *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v.10, n. 1, p. 34-39, 1978.

OLIVEIRA, C. M. G.; KUBO, R. K. Controle químico de nematoides em algodoeiro com terbufós. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2., 1999, Ribeirão Preto. **Anais...** Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1999. p. 446-448.

PADILHA, T.; SAMUELL, C. A. Fungos nematófagos na redução da disponibilidade de larvas infectantes de nematoides trichostrongilídeos. In: Melo, I. S. de; Azevedo, J. L. de. (Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p. 25-47.

PAIVA, F. de A.; ASMUS, G. L.; ARAUJO, A. E. Doenças do algodoeiro. In: **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste: Embrapa Algodão, p. 245-267, 2001.

PHIPPS, P. M.; PARTRIDGE, D. E.; EISENBACK, J. D. **Efficacy of abamectin (A16006) on seed and Temik 15 G in- furrow for root-knot nematode control on cotton**. Fungicide and Nematicide Tests 61:N003, 2005.

RAMAMOORTHY, V. et al. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants pest and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p.1-11. 2001.

ROBINSON, A. F. et al. *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. **Nematropica**, v. 27, n. 2, p. 127-180, 1997.

ROBINSON, A. F. Reniform in the U.S. cotton: When, where, why, and some remedies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 45, p. 263-288, 2007.

RUANO, O. **Controle de doenças causadas por nematoides**. UFV, Departamento de Fitopatologia, Brasília, Distrito Federal: Ministério da Agricultura e do Abastecimento., 1997. v. 2, p. 583-610.

SALGADO, C. L. et al. Influência da porcentagem de areia e *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood sobre a incidência de murcha de algodoeiro causa por fusário *Oxysporum f. vacinfectum* (Atk.) Snyder & Hanssen. **Anais de Escola Superior "Luiz de Queiroz"**, v. 23, p. 312-323, 1996.

SANTOS, J. B. et al. Respostas de doses e modo de aplicação de potássio na produção do algodoeiro no Oeste da Bahia. Safra 2005/2006. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2007.

SCHMIDT, L. M. et al. Molecular and morphological characterization and biological control capabilities of a *Pasteuria* ssp. parasitizing *Rotylenchulus reniformis*, the reniform nematode. **Journal of Nematology**, v. 42, n. 3, p. 207-217, 2010.

SHEWRY, P. R.; LUCAS, J. A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. **Advance In Botanical Research**, v. 26, p. 135-192, 1997.

SHOWLER, A. T.; REAGAN, T. E.; FLYNN, J. L. Augmentation and aldicarb treatment of nematodes in selected sugarcane weed habitats. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 4, p. 717-723, 1991.

SIDDIQUI, I. A.; SHAIKAT, S. S. Mixtures of plant disease suppressive bacteria enhance biological control of multiple tomato pathogens. **Biology and Fertility of Soils**, v. 36, n. 4, p. 260-268, 2002.

SIDDIQUI, Z. A.; IQBAL, A.; MAHMOOD, I. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Applied Soil Ecology**, v. 16, n. 2, p. 179-185, 2001.

SOUZA, J. G.; BELTRÃO, N. E. M. Fisiologia. In: BELTRÃO, N. E. de M. (org.). O agronegócio do algodão no Brasil. Brasília. **EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia**, v.1, p.89-108, 1999.

STARR, J. L. Cotton. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (eds). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy. p. 359-379, 1998.

SUASSUNA, N. D. et al. Manejo de doenças do algodoeiro. In: BELTRÃO & AZEVEDO. **O agronegócio do algodão no Brasil**. 2. ed. Brasília DF, 2008. v. 2, p. 1011-1019.

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

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola aplicada**. Jaboticabal: Funep, 2000. 372 p.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. p. 2-9; 292-296.

TORRES, G. R. C.; PEDROSA, E. M. R.; MOURA, R. M. Sobrevivência de *Rotylenchulus reniformis* em solo naturalmente infestado submetido a diferentes períodos de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 203-206, 2006.

TURNER, L. B.; STEWART, G. R. The effect of water stress upon polyamine levels in barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 37, p. 175, p. 170-177, 1986.

VIANA, S. B. A. et al. Manejo de água no algodoeiro herbáceo no Oeste Baiano, Safra 2003/2004. In: SILVA FILHO, J. L.; PEDROSA, M. B.; SANTOS, J. B. **Pesquisas realizadas com o algodoeiro no Estado da Bahia – Safra 2004/2005**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. p. 109-119. (Documentos n. 146).

VOVLAS, N.; HAVA, F. R.; DÍAZ, R. M. J.; CASTILLO, P. Differences in feeding sites induced by root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in chickpea. **Phytopathology**, v. 95, p. 368-375, 2005.

WELLER, D. M. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review Phytopathology**, v. 26, p. 379-407, 1988.

XAVIER FILHO, J. **Sementes e suas defesas contra insetos**. Projeto Multinacional de Biotecnologia e Alimentos. Organizações dos Estados Americanos, 1993. p. 1-3.

ZACHEO, C.; ORLANDO, C.; BLEVE-ZACHEO, T. Characterisation of anionic peroxidases in tomato isolines infected by *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 2, p. 249-256. 1993.

ZAMBIASI, T. C. et al. Identificação de nematoides fitoparasitas predominantes no Estado do Mato Grosso, na cultura do algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODOAO, 6. 2007. Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2007.

ZIMMERMAN, M. H.; McDONOUGH, J. Dysfunction in the flow of food. In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. (eds.). **Plant disease: an advanced treatise**. New York: Academic Press, 1978. v.3, p.117-140.