

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

BIANCA MORAES RODRIGUES

CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DAS GALHAS EM ARROZ

**Itaqui
2019**

BIANCA MORAES RODRIGUES

CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DAS GALHAS EM ARROZ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Renata Silva Canuto de Pinho

Co-orientadora: Dr.^a Bruna Canabarro Pozzebon

**Itaqui
2019**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

R696c Rodrigues, Bianca Moraes
Controle biológico do nematoide das galhas em arroz / Bianca Moraes
Rodrigues.
39 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-- Universidade Federal
do Pampa, AGRONOMIA, 2019.

"Orientação: Renata Silva Canuto de Pinho".

"Co-orientação: Bruna Canabarro Pozzebon".

1. *Oryza sativa* L.. 2. Nematicidas microbiológicos. 3. *Bacillus* spp.. 4.
Meloidogyne sp.. I. Título.

BIANCA MORAES RODRIGUES

CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DAS GALHAS EM ARROZ

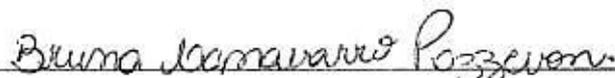
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 20 nov. 2019.

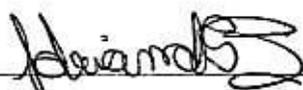
Banca examinadora:



Prof.^a Dr.^a Renata Silva Canuto de Pinho
Orientadora
(Curso de Agronomia - UNIPAMPA)



Dr.^a Bruna Canabarro Pozzebon
Co-orientadora
Pesquisadora Visitante - UNIPAMPA/Campus Itaqui



Prof.^a Dr.^a Adriana Pires Soares Bresolin
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

RESUMO

O arroz é um dos cereais mais consumidos no mundo, destacando-se como um alimento da dieta básica da população mundial. Os nematoides causadores de galhas, do gênero *Meloidogyne* podem prejudicar essa cultura, com perdas de até 80% na produção. Atualmente muito se estuda sobre a ação de bactérias atuando como agentes de controle biológico de nematoides das galhas, as quais as tornam uma alternativa de controle deste nematoide em lavouras de arroz. Além disso, minimiza o problema de não haverem cultivares de arroz resistentes a esse patógeno. Diante disso, com este trabalho objetivou-se avaliar a eficácia de três nematicidas microbiológicos no controle do nematoide de galhas na cultura do arroz irrigado. O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, na Universidade Federal do Pampa-UNIPAMPA/Campus Itaqui. O inóculo foi obtido através da extração de ovos de nematoides, a partir de raízes de plantas de arroz, mantidas em vasos com solo infestado com nematoides, em casa de vegetação. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e seis repetições. O experimento foi repetido duas vezes. Foram utilizados três nematicidas microbiológicos (*Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03 e *Bacillus methylotrophicus*), um nematicida químico (Fluensulfona) e uma testemunha sem aplicação. A semeadura do arroz, cultivar IRGA 424, foi realizada em copos plásticos de 500 mL preenchidos com solo autoclavado, e mantidos em casa de vegetação, a inoculação foi realizada com aproximadamente 5000 ovos de *Meloidogyne* spp. As avaliações foram realizadas aos 30 dias após a inoculação do primeiro experimento arroz; e aos 45 dias após a inoculação do segundo experimento. Para a avaliação, foram realizadas contagens quanto ao número de galhas por grama de raiz, número de ovos por grama de raiz e matéria fresca de raiz. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias de cada tratamento, agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. De acordo com os resultados obtidos, não houve diferença estatística entre os tratamentos aplicados para o controle do nematoide das galhas em arroz para a variável peso do sistema radicular das plantas, em nenhum dos dois experimentos avaliados. Quanto às variáveis, número de galhas e ovos por grama de raiz, no primeiro experimento, apesar de não haver diferença na quantidade de galhas por grama de raiz. No segundo experimento, o tratamento com *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* mostrou-se mais eficaz na redução de galhas por grama de raiz, reduzindo em 68,18% o número de galhas por grama de raiz. Todavia, esse tratamento não diferiu dos demais na avaliação do experimento 1. Os resultados com maior controle no

experimento 1 para ovos por grama de raiz foram obtidos com os tratamentos com *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03 e Fluensulfona, que apresentaram redução de 38,69%, 57,47% e 65,13%, respectivamente, de ovos por grama de raízes. Já no experimento 2, o tratamento mais eficaz foi com *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03, que teve redução de 77,78% no número de ovos por grama de raiz. Com base nisso, conclui-se que os nematicidas microbiológicos *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03 mostraram-se eficazes na redução do número de galhas e de ovos por grama de raiz, em arroz.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., nematicidas microbiológicos, *Bacillus* spp., *Meloidogyne* sp.

ABSTRACT

Rice is one of the most consumed cereals in the world, standing out as a staple food of the world population and gall-causing nematodes can damage this crop, with estimates of 80% in yield loss. Much is currently being studied about the action of bacteria acting as biological nematode control agents of galls, which make them an alternative control of this nematode in rice fields. It also minimizes the problem of no rice cultivars resistant to this pathogen. Thus, this study aimed to evaluate the effectiveness of three microbiological nematicides in controlling the nematode of galls *Meloidogyne* sp.2 and sp.3 in the rice crop. The experiment was conducted under greenhouse conditions at the Federal University of Pampa-UNIPAMPA / Campus Itaqui. The inoculum was obtained by extracting nematode eggs from roots of rice plants kept in pots with nematode infested soil in a greenhouse. The experimental design was completely randomized with five treatments and six replications. The experiment was repeated twice. Three microbiological nematicides (*Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* isolated BV03 and *Bacillus methylotrophicus*), one chemical nematicide (Fluensulfone) and one control without application were used. Rice sowing cultivar IRGA 424 was carried out in 500 mL plastic cups filled with autoclaved soil and kept in a greenhouse. The inoculation was carried out with approximately 5000 eggs of *Meloidogyne* spp. Evaluations were performed at 30 days after inoculation of the first rice experiment; and at 45 days after inoculation of the second experiment. For the evaluation, we counted gall number, number of eggs per root system and fresh root matter. The obtained data were submitted to the analysis of variance and the averages of each treatment, grouped by the Scott-Knott test, at the 5% probability level. According to the results obtained, there was no statistical difference between the filters applied to control root knot nematodes in rice for a variable weight of plant root system, in either of the two evaluated experiments. Regarding the variables, number of galls and eggs per gram of root in the first experiment, although there was no difference in the number of galls per gram of root. In the second experiment, treatment with *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* was more effective in reducing galls per root gram, using 68.18% or number of galls per root gram. However, this treatment did not differ from the others in the evaluation of Experiment 1. Results with greater control in Experiment 1 for eggs per gram of root were submitted to tests with *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* isolates BV03 and Fluensulfone, which was published from 38 , 69%, 57.47% and 65.13%, respectively, of eggs per gram of roots. In experiment 2, the most effective treatment was with *Bacillus amyloliquefaciens* isolated

BV03, which reduced 77.78% in the number of eggs per gram of root. Based on this, we conclude that the microbiological nematodes *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* and *Bacillus amyloliquefaciens* isolated BV03 try to reduce the number of galls and eggs per gram of root in rice.

Keywords: *Oryza sativa* L., microbiological nematicides, *Bacillus* spp., *Meloidogyne* sp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Organização das parcelas, em casa de vegetação.....	18
Figura 2 - Aplicação em sulco do nematicida Fluensulfona.....	19
Figura 3 - Raiz com galhas (A); Contador utilizado na contagem de galhas (B).....	20
Figura 4 - Raízes cortadas em cerca de 1 cm (A); Peneiras utilizadas (B).....	21
Figura 5 - Centrifuga utilizada.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes ativos, doses e forma de aplicação dos nematicidas comerciais.....17

Tabela 2 - Peso do sistema radicular (em gramas) das plantas de arroz em função da aplicação dos tratamentos para o controle do nematoide das galhas, avaliados aos 45 dias após a inoculação para a primeira época de semeadura (Experimento 1), e aos 30 dias após a inoculação para a segunda época de semeadura (Experimento 2).....23

Tabela 3 - Número de galhas por grama de raiz e número de ovos por grama de raiz das plantas de arroz, em função da aplicação dos tratamentos para o controle do nematoide das galhas, avaliados aos 45 dias após a inoculação para a primeira época de semeadura (Experimento 1), e aos 30 dias após a inoculação para a segunda época de semeadura (Experimento 2).....24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 A cultura do arroz.....	12
2.2 Nematóide das galhas.....	13
2.3 Uso de nematicidas biológicos.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Localização do experimento.....	17
3.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	17
3.3 Inoculação com nematoides.....	19
3.4 Avaliações do experimento.....	20
3.5 Análise estatística.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
5 CONCLUSÃO.....	27
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais consumidos no mundo, destacando-se como um alimento da dieta básica da população mundial. No Brasil a área cultivada com arroz irrigado aproxima-se de 2,1 milhões de hectares, com produção de 12,1 milhões de toneladas, classificando o país como nono produtor mundial da cultura (CONAB, 2017). O sul do Brasil concentra cerca de 80% da produção nacional. O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional de arroz, corroborando com aproximadamente 70% do total produzido no país, mantendo a região sul estável no mercado brasileiro, além de garantir o suprimento desse cereal à população interna (SOSBAI, 2018).

Contudo, o cultivo pode ser prejudicado devido à interferência de agentes fitopatogênicos, como os nematoides causadores de galhas em arroz irrigado. Dentre os nematoides causadores de galhas na cultura do arroz, merecem destaque as espécies *Meloidogyne graminicola* e *Meloidogyne javanica*. A preocupação acerca dessas espécies dá-se devido ao potencial de prejuízo na produção que eles causam, como em países asiáticos que a infestação do nematoide acarreta em até 80% de perda de produção (CHARCHAR; ARAGÃO, 2005).

Recentemente, Soares et al. (2019) realizaram um levantamento nas principais regiões orizícolas do Brasil, onde constataram a ocorrência de um complexo de espécies do gênero *Meloidogyne*. Dentre as espécies, foram encontradas *Meloidogyne graminicola*, *M. oryzae*, além de *M.sp.0*, *M.sp.2* e *M.sp.3*. Entretanto, há pouca informação disponível sobre a suscetibilidade das cultivares de arroz a essas espécies. Além disso, a identificação correta das espécies de *Meloidogyne* é difícil e, por vezes, pode ser baseada em caracteres subjetivos, do mesmo modo que, a diagnose é dificultada pelo elevado número de espécies descritas, muitas vezes com diagnoses duvidosas, presença de espécies crípticas, ou seja, espécies referidas como monoespecíficas que na verdade consistem em várias espécies enigmáticas de difícil identificação morfológica, e pela existência de variabilidade intraespecífica (MATTOS et al., 2017).

Os sintomas causados por *Meloidogyne* spp. geralmente começam com a formação de galhas nas pontas das raízes, semelhantes a pequenos cabos de guarda-chuva que prejudicam o desenvolvimento do sistema radicular (MATOS, 2014; SOUZA

et al., 2015). A infestação se manifesta como uma redução acentuada do crescimento da parte aérea da planta hospedeira, menor número de perfilhos e clorose nas folhas, além da ocorrência de manchas na lavoura, conhecidas como “reboleiras”, bem como murcha das plantas nas horas mais quentes do dia e redução na produção (DINARDO-MIRANDA, 2005; MACHADO; ARAÚJO FILHO, 2010). Os sintomas refletidos na parte aérea são nanismo, clorose devido à carência de nutrientes, murchamento e menor produtividade em áreas infestadas. Contudo, nunca se deve levar em consideração apenas o exame visual da lavoura, é necessário fazer a coleta de raízes para proceder-se a verificação dos parasitas (FERRAZ; BROWN, 2016).

A forma e a extensão das reboleiras podem variar conforme a declividade e textura do solo, disponibilidade de matéria orgânica, presença de nematoides (FERRAZ; BROWN, 2016). Segundo o mesmo autor, a duração do ciclo biológico do nematoide é extremamente dependente de fatores como temperatura, planta hospedeira e outros. As fêmeas produzem ovos por três semanas, após cessam a produção, vivendo um pouco mais. Os machos vivem semanas e os J2 vivem de poucos dias a meses (TAYLOR; SASSER, 1978; MATTOS, 2017)

O uso de cultivares resistentes ainda é o método de controle mais eficaz para os nematoides das galhas. Porém, no Brasil há pouco conhecimento sobre a susceptibilidade de cultivares de arroz irrigado ao gênero *Meloidogyne*. Com resistência ao *Meloidogyne graminicola*, até o momento, só foram registradas duas espécies de arroz africanas, *Oryza longistaminata* e *Oryza glaberrima* (MATOS, 2017; SOUZA; DEBASTIANI, 2015; BIMPONG et al., 2010). Já o controle químico de nematoides em geral, é pouco efetivo na obtenção de produtos agrícolas de melhor qualidade, além de apresentar custos altos e deixar resíduos nos alimentos, que prejudicam a saúde humana e o meio ambiente (CAMPOS et al. 1998; SOUZA; DEBASTIANI, 2015).

Devido ao alto custo dos defensivos químicos, além do risco de contaminação de águas e solos, risco de intoxicação por agrotóxicos em trabalhadores rurais, e risco de contaminação dos próprios alimentos, existe a necessidade da busca por alternativas de manejo de doenças de plantas que causem menos impactos ambientais e sociais, bem como sejam mais rentáveis economicamente ao produtor rural (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Dentro disso, o controle biológico, promovido por membros do gênero *Bacillus* spp. pode ser uma alternativa viável no manejo de nematoides na

cultura do arroz, devido à sua atividade antagônica de amplo espectro, alta capacidade de produção de endósporos e resistência a condições desfavoráveis do ambiente e hospedeiro (WANG et al., 2014; FERRAZ et al., 2014; FOUSIA et al., 2015).

Com base nisso, torna-se necessário a realização de testes, com formulações de nematicidas microbiológicos que tenham em sua composição espécies pertencentes ao gênero *Bacillus*, e apresentem eficácia no manejo de espécies de *Meloidogyne* que atacam a cultura do arroz. Diante disso, objetivou-se com esse trabalho avaliar a eficácia de três nematicidas microbiológicos no controle do nematoide das galhas na cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) surgiu na Ásia e foi disseminado na Índia, em Bengala, Assam e Mianmar, com diferentes variedades cultivadas em solos de terras baixas, e também de maneira espontânea. O arroz cultivado é uma planta herbácea da classe Liliopsida (Monocotiledônea), ordem Poales, família Poaceae, e gênero *Oryza*. É uma gramínea anual, que possui sistema fotossintético do grupo C3, sendo adaptada ao ambiente aquático, devido à presença de aerênquima no colmo e nas raízes da planta, que possibilita a absorção de oxigênio do ar para a rizosfera (SOSBAI, 2018).

É um alimento essencial na nutrição humana, sendo a base alimentar para três bilhões de pessoas no mundo. É também o segundo cereal mais cultivado no mundo, perdendo apenas para o milho, e ocupa área aproximada de 168 milhões de hectares. A produção de cerca de 741,0 milhões de toneladas de grãos em casca corresponde a 29% do total de grãos usados na alimentação humana (SOSBAI, 2018).

Na safra 2018/2019, a produção média alcançou 10.595 mil toneladas. A estimativa para a safra 2019/20 para o arroz é positiva, com uma leve redução (0,6%) na área a ser cultivada, resultando em 1.687,4 mil hectares, e uma produção de 10,6 milhões de toneladas, 1,9% superior à de 2018/19 (CONAB, 2019). De acordo com a SOSBAI (2018), os dez países maiores produtores são, em ordem decrescente: China, Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietnã, Tailândia, Myanmar, Filipinas, Brasil e Japão. O Brasil apresentou produção anual, base casca, entre 11 e 13 milhões de toneladas de arroz nas últimas safras, participando com 79,3% da produção do MERCOSUL. Além disso, a maior parte da produção nacional está concentrada em cinco estados: Rio Grande do Sul, onde predomina o arroz irrigado, com 68,9% da produção nacional, Santa Catarina, 9,8% da produção, Mato Grosso, 4,1%, Maranhão, 2,7% e Tocantins com 6,0% da produção nacional (CONAB, 2019).

No Rio Grande do Sul, o grão é produzido em 129 municípios localizados na metade sul do Estado, onde 232 mil pessoas vivem direta ou indiretamente da exploração dessa cultura. As maiores regiões produtoras de arroz do estado são a Fronteira Oeste e a Zona Sul, tanto pelas maiores áreas, quanto pelas produtividades obtidas. Os municípios que se destacam pelas maiores produtividades, em ordem decrescente são: Uruguaiana, Itaqui, Santa Vitória do Palmar, Alegrete e São Borja (IRGA, 2018). Diante disso, pode-se perceber que a maior produção está localizada em

estados com solo de várzea e em sistema de irrigação por lâmina de água (ROTILI et al., 2010).

2.1.1 Nematóide das galhas

As espécies do gênero *Meloidogyne* constituem o grupo mais importante dentre os fitonematóides, devido a características como o alto grau de polifagia e a ampla distribuição geográfica, configurando-os como constantes ameaças aos produtores rurais de zonas tropicais, subtropicais e também temperadas (FERRAZ; BROWN, 2016).

No cultivo do arroz irrigado, o nematóide da espécie *Meloidogyne graminicola* é o mais importante, devido sua frequência e alto potencial de dano às plantas (PADGHAM et al., 2004). De acordo com um levantamento feito por Mattos et al. (2017), foi registrado um complexo de espécies de *Meloidogyne* ocorrendo na cultura do arroz, na região sul do Brasil. Dentre elas, *M. graminicola* foi relatada como a espécie predominante nos estados de Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Já no Paraná a espécie mais comumente encontrada foi *M. sp.3*. Além disso, houve detecção de *M. sp.0*, *M. oryzae* e *M. javanica* em SC. A perda de produção pode chegar a 70% em solos infestados com *M. graminicola* (BRIDGE et al., 2005; MATTOS, 2017). A ação nociva desses nematoides sobre as raízes altera a absorção e translocação de nutrientes, predispondo a planta a estresses ambientais, e em casos mais severos pode culminar na morte da planta (STEFFEN et al., 2007).

Os nematoides causam danos no sistema radicular das plantas, e essas expressam os sintomas em áreas delimitadas da lavoura, conhecidas como reboleiras, atacando as raízes para absorver nutrientes e completar seu ciclo de vida (CARVALHO, 2018). Após a formação das galhas, o sistema radicular das plantas apresenta limitada capacidade de absorção e transporte de água e nutrientes, e plantas severamente infectadas podem murchar mesmo com umidade suficiente no solo. Como também podem exibir sintomas de deficiência mineral devido a capacidade reduzida em da solução do solo (MACHADO. ARAÚJO FILHO, 2010; NUNES et al. 2010; SOUZA et al., 2015). Além disso, as galhas agem como drenos metabólicos que competem com outros órgãos da planta hospedeira por recursos produzidos pela fotossíntese, os fotoassimilados (KIRSCH, 2016).

A infecção ocorre pela penetração do J2 nas raízes, migrando entre os espaços intercelulares até o cilindro vascular, onde penetra o estilete para se alimentar (CAILLAUD et al., 2008). Em plantas de arroz atacadas por espécies do gênero

Meloidogyne, inicialmente ocorre o amarelecimento das folhas, resultando em crescimento lento, raquitismo e floração precoce. O aspecto das raízes fica semelhante a pequenos cabos de guarda-chuva, que ocorre em função da exsudação de secreções enzimáticas via estilete na célula da planta, que induzem à divisão excessiva dos núcleos, resultando na hiperplasia e hipertrofia das células, com a formação de células gigantes (MICHEREFF et al., 2005; SOUZA et al., 2015).

Os prejuízos pela presença de *Meloidogyne* spp. em arroz variam com o grau de resistência das plantas, com o nível populacional no solo e com o manejo da água na área de irrigação cultivada, podendo chegar a 80% em solos altamente infestados (HUNT; HANDOO, 2009). Outro efeito negativo da presença da infestação de uma área com *Meloidogyne* é a desvalorização comercial da propriedade em uma situação de venda, já que essa está parcial ou quase totalmente infestada por nematoides das galhas, um ponto que será levado em conta pelos potenciais compradores (FERRAZ; BROWN, 2016).

Os nematoides formadores de galhas, do gênero *Meloidogyne*, são destacados como o grupo mais importante devido a sua ampla distribuição geográfica, polifagia, e variabilidade fisiológica, o que dificulta o estabelecimento de medidas de controle, especialmente a rotação de culturas e a resistência varietal, consideradas as estratégias mais viáveis e eficientes, no manejo de nematoides (RIBEIRO, 2005). Além disso, uma vez introduzido na área de cultivo, a erradicação é praticamente impossível. Após a introdução, o que busca-se é reduzir a população dos nematoides abaixo do nível de dano econômico a cultura, e o controle pode ser feito através de métodos químicos, biológicos, mecânicos e culturais. A rotação de culturas e adubação verde com plantas antagonistas tem apresentado efeitos positivos, contudo, o efeito e o retorno financeiro não são de imediato, o que faz com que haja resistência a esse método (MOREIRA et al., 2015). O uso de produtos químicos é difícil, pois possuem alto custo, além de apresentarem risco de contaminação de águas e solos, risco de intoxicação por agrotóxicos em trabalhadores rurais, e risco de contaminação dos próprios alimentos (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).

2.2 Uso de nematicidas biológicos

Contudo que haja facilidade e previsibilidade na aplicação dos defensivos químicos, a atual realidade da produção agrícola expõe lacunas sobre a preocupação da

sociedade com os impactos da agricultura, tais como: elevados custos de produção; redução e perda de eficiência dos produtos químicos, alertas aos padrões ambientais e de saúde humana, expressos na contaminação ambiental; desequilíbrio biológico; perda da diversidade ecossistêmica; intoxicação de agricultores; e contaminação da cadeia alimentar (MORANDI, 2009). Baseado nisso, têm-se buscado por métodos de controle de doenças que apresentem menores impactos ambientais, baseados em promover uma agricultura mais sustentável, com menores riscos ao homem, ao ambiente e redução de custos na produção.

Perdas causadas pelo nematoide das galhas variam em função do grau de resistência das plantas, da sua população no solo e do manejo da irrigação. Apesar do uso de resistência genética ser uma das principais medidas de controle, não existem genótipos resistentes a *M. graminicola* no mercado brasileiro (STEFFEN et al., 2008). Além disso, o uso de defensivos químicos para o controle de nematoides em geral, é pouco efetivo, apresenta custos altos e presença de resíduos em alimentos e no meio ambiente (CAMPOS et al. 1998; SOUZA; DEBASTIANI, 2015).

Nesse sentido, encontra-se o controle biológico, um fenômeno natural que resulta na regulação de uma população de plantas ou animais por meio de inimigos naturais, se caracteriza como agentes de mortalidade biótica, onde há inimigos naturais para cada estágio de vida de todas as espécies de plantas e animais (REIS, 2018). Em doenças de plantas, a ciência do controle biológico surgiu em 1926, com o trabalho de Sanford, sobre fatores que influenciavam a patogenicidade de *Streptomyces scabies*, agente causal da sarna na batata. E no trabalho sobre o mal-do-pé do trigo, causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, foi descrito pela primeira vez o termo controle biológico (MICHEREFF, 2008). Ainda, segundo o autor, a doença é resultado da relação entre a planta hospedeira susceptível, agentes patógenos e ambiente favorável. Todavia, também estão presentes nos sítios de infecção, agentes não patogênicos, que possuem potencial de controle biológico do patógeno, podendo reduzir a atividade do mesmo por antagonismo ou contribuir para uma maior defesa da planta infectada.

A premissa básica do controle biológico é controlar doenças e insetos vetores de doenças através do uso de inimigos naturais, considerados microrganismos benéficos, como insetos, predadores, parasitoides, fungos, vírus e bactérias (DINIZ, 2016). Dentre os diversos inimigos naturais de nematoides comumente encontrados nos solos, os que apresentam maior potencial como agentes de controle biológico são as bactérias e os

fungos, que podem atuar através de diferentes mecanismos de ação como antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação e indução de defesas do hospedeiro (BARRETTI et al., 2009; LIN et al., 2013; PURNAWATI et al., 2014).

As espécies de bactérias mais promissoras ao controle de nematoides são as pertencentes à família Bacillaceae, especialmente os gêneros *Bacillus* e *Chlostridium*, que possuem diferentes modos de ação e um amplo espectro de hospedeiros. Estas bactérias podem ser encontradas no solo, nos tecidos das plantas hospedeiras e nos próprios nematoides, incluindo ovos e cistos (FERRAZ et al., 2015; FOUSIA et al., 2015). Caracterizadas como produtoras de endósporos, estrutura que lhes confere resistência, as bactérias do gênero *Bacillus* spp. produzem uma diversidade de compostos secundários que agem como antibacterianos, fungicidas, antivirais, agentes imunossupressores, que conferem às plantas proteção, podendo agir de forma isolada ou com todos esses mecanismos na inibição de fitopatógenos (ARAVIND et al., 2010; BRAGA JUNIOR, 2017). Espécies do gênero *Bacillus* spp. podem sintetizar metabólitos secundários que interferem no ciclo reprodutivo de nematoides e/ou transformam exsudatos radiculares degradando-os, o que impedem o processo de reconhecimento nematoide-planta (ARAÚJO, 2018). Possuem também a capacidade de invadir os tecidos internos das plantas, o que lhes confere vantagem adicional quando comparadas com outros microrganismos de controle biológico, pois ficam protegidas das condições adversas do meio ambiente. Essas bactérias atuam sinergicamente, através da supressão direta de nematoides e pela promoção de crescimento das plantas, que facilita a colonização e atividade da rizosfera dos microrganismos antagonistas aos nematoides (TIAN et al., 2007).

A utilização do controle biológico pode seguramente reduzir a incidência de doenças e favorecer a longevidade da cultura. Porém, a eficiência desse tratamento está relacionada, entre outros fatores, ao nível populacional do patógeno, com eficácia maior quando aplicado a populações menores do patógeno, estado nutricional, plantas bem nutridas são mais resistentes ao ataque de parasitas e quanto a idade da planta, com plantas mais jovens apresentando maior susceptibilidade a penetração do patógeno. Para viabilizar a utilização desses agentes no controle biológico, também são necessários estudos de multiplicação e distribuição desses microrganismos para sua disponibilização ao agricultor e, principalmente, obtenção de registros para comercialização (RITZINGER, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização do experimento

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, na Universidade Federal do Pampa-UNIPAMPA/Campus Itaqui, no período de janeiro a maio de 2019. O município está localizado a 29°07'10'' de latitude Sul, 56°32'56'' de longitude Oeste de Greenwich, e a 76 m de altitude (CARGNELUTTI FILHO et al., 2008). O inóculo de *Meloidogyne* sp. foi obtido através de raízes de plantas de arroz da cultivar IRGA 424, mantidas em vasos com solo infestado com o nematoide, em casa de vegetação.

3.2 Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos e seis repetições.

Foram utilizados três nematicidas microbiológicos, um nematicida químico e uma testemunha sem aplicação (Tabela 1). Cada parcela foi constituída por um copo plástico de 500 mL, com uma planta de arroz (Figura 1). O substrato utilizado foi solo esterilizado a 121 °C, por 60 minutos, proveniente da área experimental do campus da universidade, mantido em repouso por 20 dias após uma autoclavagem.

Tabela 1 - Ingredientes ativos, doses e forma de aplicação dos nematicidas comerciais.

Ingredientes Ativos	Dose/ Forma de aplicação
Testemunha	-
<i>Bacillus methylotrophicus</i> isolado SF 267	0,3 mL.100 g sementes ⁻¹
<i>Bacillus subtilis</i> isolado FMCH002(DSM32155) + <i>Bacillus licheniformis</i> isolado FMCH001(DSM32154)	0,15 g.100 g sementes ⁻¹
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado BV03	0,2 mL. 100 g sementes ⁻¹
Fluensulfona	0,85µL.sulco ⁻¹

Figura 1 - Organização das parcelas, em casa de vegetação.



Após o período de descanso do solo, para os nematicidas microbiológicos *B. methylotrophicus* UFPEDA 20; *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*, foi realizado o tratamento de sementes de arroz cultivar IRGA 424, seguindo a recomendação do fabricante. Para isso, 100 g de sementes foram acondicionadas em sacos plásticos, tratadas com as doses descritas na Tabela 1, e homogeneizadas. Já para o nematicida químico Fluensulfona, o produto foi aplicado em sulco, diretamente no solo em uma linha paralela as sementes, para não haver contato entre ambos, seguindo as recomendações do fabricante (Figura 2).

Após o tratamento de sementes, foram semeadas cinco sementes por copo, mantendo-se o padrão de 1 cm de profundidade de semeadura. Após a emergência, realizou-se um desbaste, mantendo como padrão uma planta por copo. O experimento foi repetido em duas épocas de semeadura. A avaliação da primeira época foi realizada aos 30 dias após a inoculação dos nematoides no solo (DAI), e a avaliação da segunda época, aos 45 DAI.

Figura 2 – Aplicação em sulco do nematicida Fluensulfona.



3.3 Inoculação das plantas de arroz

A inoculação das plantas foi realizada em estágio vegetativo V3, com suspensão de 5000 ovos de *Meloidogyne* spp. por parcela, através de dois orifícios feitos no solo, próximo ao colo da planta.

O inóculo foi obtido através da extração de ovos de nematoides de plantas de arroz mantidas em casa de vegetação como fonte de inóculo, através da técnica proposta por Hussey e Barker (1973), adaptado por Boneti e Ferraz (1981). Para isso, as raízes foram lavadas em água corrente, cortadas em pedaços de aproximadamente 1 cm, e trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 1 minuto. Após esse procedimento, a suspensão de raízes foi filtrada em um conjunto de peneiras de 0,075 mm sobre 0,038 mm de abertura. Os ovos de *Meloidogyne* sp. retidos na peneira de 0,038 mm foram coletados e acondicionados em béquer, com pisseta com água, e foi reservada a suspensão.

Posteriormente, foi adicionado caulim ao fundo de tubos Falcon para acelerar a decantação do material desintegrado contendo nematoides, verteu-se a suspensão de ovos reservada no passo anterior e homogeneizou-se os tubos manualmente. Após a homogeneização, os tubos foram alocados na centrífuga (Eppendorf, modelo 5430/5430 R) e centrifugados durante 5 minutos a 1800 rpm. Após, descartou-se o sobrenadante dos tubos e adicionou-se a estes, solução sacarose (1 L de água/ 520 gramas de

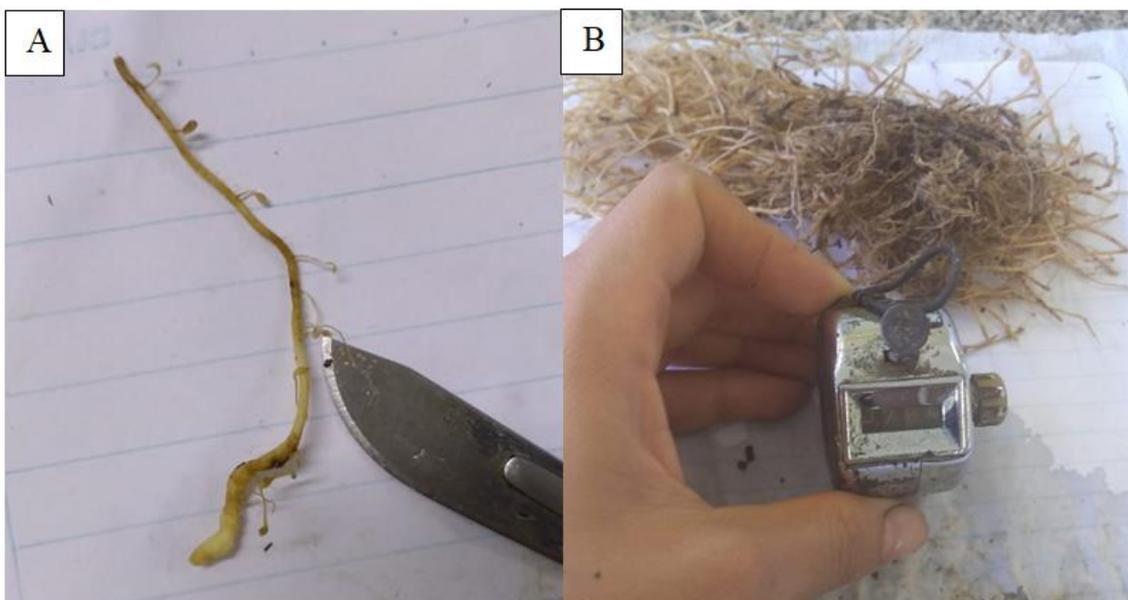
sacarose) para que os nematoides permanecessem em suspensão no sobrenadante, já que a solução de sacarose possui densidade ligeiramente menor que a densidade dos corpos de nematoides. Novamente homogeneizou-se os tubos manualmente, que foram centrifugados durante 1 minuto a 1800 rpm.

Após isso, o sobrenadante foi passado na peneira de 0,038 mm, e lavado com água corrente. O sobrenadante retido na peneira foi reservado para a padronização dos ovos e posterior inoculação em orifícios feitos próximos ao colo das plantas de arroz.

3.4 Avaliações do experimento

As avaliações foram realizadas aos 30 dias após a inoculação da primeira semeadura do arroz; e aos 45 dias após a inoculação da segunda semeadura do arroz em casa de vegetação. Para isso, as plantas foram retiradas dos respectivos copos, e as raízes foram lavadas em água corrente para remoção do solo. Posteriormente, determinou-se o peso (g) da matéria fresca da raiz em balança analítica de precisão. Também foram contabilizados o número de galhas por grama/raiz e o número de ovos/g raiz. A contagem de galhas foi feita manualmente (Figura 3).

Figura 3 – Raiz com galhas (A); Contador utilizado na contagem de galhas (B).



Para a contagem de número de ovos/g raiz, as raízes foram cortadas em fragmentos de aproximadamente 1 cm, trituradas em liquidificador por 1 minuto

em solução de hipoclorito de sódio 0,5%, e logo, a suspensão foi vertida em um conjunto de peneiras de 0,075 mm sobre 0,038 mm de abertura (Figura 4).

Figura 4 – Raízes cortadas em cerca de 1 cm (A); Peneiras utilizadas (B).



Para a contagem do número de ovos, usou-se o método da clarificação (COOLEN; D'HERDE, 1972). Para isso, a suspensão foi transferida para tubos Falcon, acrescidas de Caulim e centrifugadas por 5 minutos a 1800 rpm. O sobrenadante foi eliminado, e adicionou-se solução de sacarose. Em seguida, os tubos foram colocados novamente na centrífuga (Figura 5) por 1 minuto a 1800 rpm, e o sobrenadante foi vertido em peneira de 0,038 mm. Da suspensão retida na peneira de 0,038 mm, contabilizou-se o número de ovos em câmara de Peters, em microscópio estereoscópio e estimou-se o número total de ovos presentes nas raízes das plantas.

Figura 5 - Centrifuga utilizada.



3.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$), no *software* estatístico SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, não houve diferença estatística entre os tratamentos aplicados para o controle do nematoide das galhas em arroz para a variável peso do sistema radicular das plantas, em nenhum dos dois experimentos avaliados (Tabela 2).

Tabela 2 – Peso do sistema radicular (em gramas) das plantas de arroz em função da aplicação dos tratamentos para o controle do nematoide das galhas, avaliados aos 30 dias após a inoculação para a primeira época de semeadura (Experimento 1), e aos 45 dias após a inoculação para a segunda época de semeadura (Experimento 2).

Tratamentos	Experimento 1	Experimento 2
Fluensulfona	1,35 a	11,18 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado BV03	1,62 a	14,76 a
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	2,20 a	15,36 a
<i>Bacillus methylophilicus</i>	2,28 a	12,53 a
Testemunha	2,73 a	18,48 a
CV(%)	46	58

Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor (2019).

Os resultados obtidos nesse estudo são semelhantes aos obtidos por Fernandes et al. (2013), que testaram isolados bacterianos de *Bacillus* spp., e observaram que não houve incremento no peso da parte aérea e das raízes das plantas de feijoeiro. Além disso, apesar de não haver redução no número de galhas induzidas pelo nematoide, o isolado 51 reduziu cerca de quatro vezes o número de ovos de *Meloidogyne* em relação a testemunha.

Quanto às variáveis, número de galhas e ovos por grama de raiz, no primeiro experimento, apesar de não haver diferença na quantidade de galhas por grama de raiz. No segundo experimento, o tratamento com *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* mostrou-se mais eficaz na redução de galhas por grama de raiz, reduzindo em 68,18% o número de galhas por grama de raiz. Todavia, esse tratamento não diferiu dos demais na avaliação do experimento 1. Os resultados com maior controle no experimento 1 para

ovos por grama de raiz foram obtidos com os tratamentos com *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03 e Fluensulfona, que apresentaram redução de 38,69%, 57,47% e 65,13%, respectivamente, de ovos por grama de raízes. Já no experimento 2, o tratamento mais eficaz foi com *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03, que teve redução de 77,78% no número de ovos por grama de raiz (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de galhas por grama de raiz e número de ovos por grama de raiz das plantas de arroz, em função da aplicação dos tratamentos para o controle do nematoide das galhas, avaliados aos 30 dias após a inoculação da primeira época de semeadura (Experimento 1), e aos 45 dias após a inoculação da segunda época de semeadura (Experimento 2).

Tratamentos	Galhas por grama de raiz		Ovos por grama de raiz	
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 1	Experimento 2
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	15 a	7 a	160 a	162 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado BV03	12 a	24 b	111 a	62 a
<i>Bacillus methylophilicus</i>	13 a	25 b	210 b	310 b
Fluensulfona	12 a	29 b	91 a	287 b
Testemunha	17 a	22 b	261 b	279 b
CV(%)	24,77	32,84	23,59	33,06

Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Fonte: Do autor (2019).

Atualmente muito se estuda sobre a ação de bactérias do gênero *Bacillus* spp. e da espécie *Pseudomonas fluorescens*, que são procariotos promotores de crescimento. Além disso, essas fazem parte de um grupo de bactérias reconhecidas pela ação contra nematoides, através da produção de substâncias tóxicas, competição por nutrientes essenciais, como o ferro, e ainda, pela promoção de crescimento vegetal, que pode agir como um escape para a planta, tornando-a mais resistente ao ataque do patógeno (MOURA DE SOUZA et al., 2015).

Os principais mecanismos associados à ação de bactérias na supressão de patógenos envolvem a redução da eclosão de juvenis e a atratividade das raízes, em razão da produção de toxinas e alteração dos exsudatos radiculares, além da indução de resistência sistêmica na planta hospedeira (SIKORA; HOFFMANN-HERGARTEN,

1992; FERNANDES et al., 2014). Turatto (2017), ao comparar o efeito de diferentes bactérias no controle de *Meloidogyne javanica*, concluiu que mesmo utilizando outras bactérias, como *Pasteuria*, *Pseudomonas* e *Streptomyces* conhecidas como nematicidas, a maior porcentagem de redução na eclosão de ovos de *M. javanica* foi observada com o uso de *Bacillus* spp. reduziu em 74% a eclosão de juvenis desse patógeno, enquanto *Pseudomonas* spp. reduziu apenas em 54,77% a eclosão de ovos. Isso pode ser explicado porque os produtos à base de *Bacillus* spp. podem atuar como antagonistas de espécies de *Meloidogyne*, podendo ser uma opção ao controle químico para o manejo desse patógeno (VAZ, 2011). Esse antagonismo pode ocorrer pela associação das proteases microbianas produzidas por espécies de *Bacillus* spp. que agem como fatores de virulência contra os nematoides (LIAN et al., 2007). Além disso, essas bactérias possuem a capacidade de produzir endotoxinas com caráter nematicida, capazes de interferir no ciclo de reprodução, oviposição e eclosão de juvenis dos nematoides (MACHADO et al., 2012).

O tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03, obteve um menor número de ovos por grama de raiz (Tabela 3). Esser (2018) ao avaliar plantas de alface tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03, aos 28 dias após a infestação de *M. incognita*, verificou que a ação da bactéria na reprodução dos nematoides obteve controle de quase 100%, que ocorreu devido à formação de um biofilme na rizosfera da planta, que impede a penetração de alguns fitonematoides e/ou interferindo na sua reprodução. Isso pode ser explicado porque a adesão das bactérias na raiz da planta, leva a formação de biofilmes, que são comunidades bacterianas, onde as células são incorporadas a uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares ligadas a superfície das raízes, levando a interação das bactérias com as plantas e auxiliando na competição contra microrganismos deletérios, como também, formando uma barreira protetiva contra o ataque de microrganismos patogênicos (BATISTA, 2017).

O mecanismo de redução de massa de ovos, é discutido por Brum (2017), que faz uma associação à dificuldade de desenvolvimento do nematoide e dificuldades em obter reservas suficientes para a produção de ovos, que corrobora com a interrupção da reprodução do nematoide. Baseado nisso, possivelmente, a redução da massa de ovos de *Meloidogyne* sp. em plantas de arroz, obtida nesse estudo pode ter ocorrido devido a um efeito supressor, onde possivelmente ocorreu a indução de resistência na planta devido ao tratamento de sementes com os produtos biológicos.

Além disso, Berlitz et al. (2018), relataram que *B. amyloliquefaciens* atua na região radicular da planta, e modifica os exsudatos produzidos. Assim os nematoides não identificam quimicamente a planta hospedeira e permanecem no solo, não conseguindo parasitar as raízes e nem completar o seu ciclo de vida. Esser et al. (2017), relataram que o uso de *B. amyloliquefaciens* no tratamento de sementes de milho reduziu a reprodutibilidade de *Pratylenchus brachyurus* em até 70%. Resultados semelhantes foram encontrados por Anastasiadis et al. (2008), que observaram que o uso combinado de *Bacillus firmus* e *Paecilomyces lilacinus* proporcionou redução no número de ovos nas raízes de tomate infestadas com *Meloidogyne* spp..

Esses resultados reforçam o controle sobre nematoides através de nematicidas microbiológicos, com bactérias. Segundo Souza Junior et al (2010), a utilização de combinações de rizobactérias para microbiolizar as sementes de arroz proporcionou em todos os tratamentos redução no número de galhas de *Meloidogyne graminicola* com variação média de 46% em relação à testemunha e quatorze reduziram em média 52% do número de ovos, além de redução em média de 51% no fator de reprodução do nematoide.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que os nematicidas microbiológicos *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amyloliquefaciens* isolado BV03 reduzem o número de galhas e de número de ovos por grama de raiz em arroz.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANASTASIADIS, I. A.; GIANNAKOU, I. O.; PROPHETOU-ATHANASIADOU, D. A.; GOWEN, S. R. The combined effect of the application of a biocontrol agent *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root-knot nematodes. **Crop Protection**, v. 27, p. 352-361, 2008.

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**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 197-203, abr. 2002.

ARAÚJO, F. V. Novas moléculas e produtos biológicos no manejo de fitonematóides em soja. Trabalho apresentado no **XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia**. Bento Gonçalves, RS. Brasília, DF. 239 p. 2018.

ARAVIND, R.; EAPEN, S. J.; KUMAR, A.; DINU, A.; RAMANA, K. V. Screening of endophytic bacteria and evaluation of selected isolates for suppression of burrowing nematode (*Radopholus similis* Thorne) using three varieties of black pepper (*Piper nigrum* L.). **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n. 4, p. 318-324, 2010.

BARRETTI, P. B.; ROMEIRO, R. S.; MIZUBUTI, E. S. G.; SOUZA, J. T. Seleção de bactérias endofíticas de tomateiro como potenciais agentes de biocontrol e de promoção de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 2038-2044, 2009.

BATISTA, B. D. **Promoção de crescimento vegetal por *Bacillus* sp . RZ2MS9: dos genes ao campo**. Dissertação (Doutorado em ciências - Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba. 2017.

BERLITZ, D. L.; SCHERER, J. R. L.; MATSUMURA, A. S. ; MATSUMURA, A. S. ; MATSUMURA, A. T. S. Controle de *Pratylenchus brachyurus* com *Bacillus amyloliquefaciens* e *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) em soja inoculada com icb nutrisolo trichoderma. Trabalho apresentado no **XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia**. Bento Gonçalves, RS. Brasília, DF. 239 p. 2018.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: Campanhola, C. & Bettiol, W. (Eds.) **Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário**. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente, p. 79-95, 2003.

BIMPONG, I. K.; CARPENA, A. L.; MENDIORO, M. S.; FERNANDEZ, L.; RAMOS, J. Evaluation of *Oryza sativa* × *O. glaberrima* derived progenies for resistance to rootknot nematode and identification of introgressed alien chromosome segments using SSR markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 3988-3997, 2010.

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey and Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553-553, 1981.

BRAGA JUNIOR, G.; M.; CHAGAS JUNIOR, A.; F.; CHAGAS, L. F. B. C.; CARVALHO FILHO, M. R.; MILLER, L. O.; SANTOS, G. R. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro. **Biota Amazônia**, v. 7, n. 3, p. 45-51, set. 2017. doi:<http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n3p45-51>.

BRIDGE, J.; PLOWRIGHT, R. A.; PENG, D. Nematode parasites of rice. In: Luc, M., Sikora, R.A., & Bridge, J. (eds). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. CAB International, Wallingford, p. 87-128, 2005.

BRUM, D. **Fitonematoides nas culturas do arroz irrigado e do morangueiro: biocontrole, promoção de crescimento, agressividade de populações e reação de cultivares**. 2017. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

CAILLAUD, M. C.; DUBREUIL, G.; QUENTIN, M.; PERFUS-BARBEOCH, L.; LECOMTE, P.; ENGLER, J. A.; ABAD, P.; ROSSO, M. N.; FAVERY, B. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, n. 1, p. 104-113, 2008.

CAMPOS, V. P.; SOUZA, J. T.; SOUZA, R. M. Controle de fitonematóides por meio de bactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, 1998. Disponível em: <http://nematologia.com.br/files/rapp/rapp02.pdf>. Acesso em: 25 out. 2019.

CARGNELUTTI FILHO, A.; MALUF, J. R. T.; MATZENAUER, R. Coordenadas geográficas na estimativa das temperaturas máxima e média decendiais do ar no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2448-2456, 2008.

CARNEIRO, R. M. D. G. Princípios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 113-121, 1992.

CARVALHO, S. L. **Levantamento de controle biológico de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do milho-doce**. 2018. Dissertação (Mestrado em Olericultura) - Instituto Federal De Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, IF Goiano, Morrinhos, 2018.

CHARCHAR, J. M.; ARAGÃO, F. A. S. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. **Nematologia Brasileira**. v. 29, p. 243-249, 2005.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/29039_f309ac254b698224266e20403d4aca29 >. Acesso: em: 20 out. 2019.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileiro – grãos safra 2016/2017: Décimo segundo levantamento. v.4, n.12 Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2017. 158 p. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/1317_3b92fdb4c81421e032d3de69c6243135>. Acesso em: 31 out. 2019.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Primeiro levantamento, outubro 2019 – safra 2019/2020. : Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2019. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/29039_f309ac254b698224266e20403d4aca29>. Acesso em: 21 out. 2019.

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

COOLEN, W. A.; D' HERDE, C. J. **A method for quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. State Nematology and Entomology Research Station, Ghent. p. 77, 2003.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Manejo de fitonematoides em cana-de-açúcar. **Jornal Cana: tecnologia agrícola**, v. 5, p. 64-67, 2005.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Nematoides e pragas da cana-de-açúcar**. Campinas, Instituto Agronômico, 2014. 400 p.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; MORELLI, J. L.; LANDELL, M. G. A.; SILVA, M. A. Comportamento de genótipos de cana-de-açúcar em relação a *Pratylenchus zea*. **Nematologia Brasileira**, v. 20, p. 52-58, 1996.

DINIZ, F. Controle biológico: ciência a serviço da sustentabilidade. **Embrapa**, Brasília, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/16154268/control-e-biologico-ciencia-a-servico-da-sustentabilidade>. Acesso em: 20 set. 2019.

ESSER, R.; CARVALHO, R.; FERREIRA, M. G. C.; CAMPOS, M. S.; SOLINO, A. J. S.; FERRO, H.; FREIRE, E.S. *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 INDUZ RESISTÊNCIA SISTÊMICA AO Meloidogyne incognita no cultivo de alface americana. In: XXXV CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2018, Bento Gonçalves. **Anais** [...] Bento Gonçalves: CBN, 2018.

ESSER, R.; SILVA, M. S. G.; TREVISAN, M.; ARANTES, L. G.; FERRO, H.; FREIRE, E. S. *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 controla *Pratylenchus brachyurus* no cultivo de milho. In: 50º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2017, Uberlândia. **Anais**[...] Uberlândia: PPGF, 2017.

FERNANDES, R. H.; LOPES, E. A.; VIEIRA, B. S.; BONTEMPO, A. F. Controle de Meloidogyne javanica na Cultura do Feijoeiro com Isolados de Bacillus spp. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 7, n. 1, p. 76-81. 2013.

FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. Pochonia chlamydosporia e Bacillus subtilis no controle de Meloidogyne incognita e M. javanica em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 194-200, 2014.

FERRAZ, H. G. M.; RESENDE, R. S.; SILVEIRA, P. R.; ANDRADE, C. C. L.; MILAGRES, E. A.; OLIVEIRA, J. R.; RODRIGUES, F. A. Rhizobacteria induces resistance against *Fusarium* wilt of tomato by increasing the activity of defense enzymes. **Bragantia**, v. 73, p. 274-283, 2014.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, p. 251, 2016.

FERRAZ, S.; SANTOS, M.A. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. In: LUZ, W.C. (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, EMBRAPA, p. 283-314, 1995.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FOUSIA, S.; PAPLOMATAS, E.J.; TJAMOS, S.E. *Bacillus subtilis* QST 713 confers protection to tomato plants against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and induces plant defence-related genes. **Journal of Phytopathology**, v. 164, p. 264-270, 2015.

FREITAS, L. G. Rizobactérias versus nematóides. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS 7, Bento Gonçalves. **Anais** [...] Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 25-35, 2001.

GRIGOLETTI, J. R. A.; SANTOS, A. F. dos.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1, dez. 2000.

HAGUE, N.G.; GOWEN, R.S. Chemical control of nematodes. In: Brown, R.H.; Kerry, B.R. eds. **Principles and practice of nematode control in crops**. London Academic Press, p. 131-173. 1986.

HIGAKI, W. A.; ARAUJO, F. F. *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de nematoides e alterações fisiológicas em algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 295- 303, 2012.

HUNT, D. J. ; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. R. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. Cambridge: CABI International, p. 55-88, 2009.

HUSSEY, R.S.; BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, St Paul, v. 57, p. 1025-1028, 1973.

IRGA. Instituto Rio-grandense do Arroz. Boletim de resultados da lavoura de arroz-Safra 2017/18. Divisão de Assistência Técnica e Extensão Rural, Seção de Política Setorial. Porto Alegre, RS. 2018. 19 p.

KHAN, M. R.; KHAN, S. M.; MOHIDDIN, F. A.; ASKARY, T. H. Effect of certain phosphate-solubilizing bacteria on root-knot nematode disease of mungbean. **Development in Plant and Soil Sciences**, v. 102, p. 341-346, 2007.

KIRSCH, V. G. **Fitonematoides na cultura da soja: levantamento, caracterização de espécies e reação de culturas em *Meloidogyne* spp.** 2007. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Agricultura e Ambiente) - Universidade Federal de Santa Maria, CESNORS-FW, Frederico Westphalen, 2016.

LIAN L. H.; TIAN, B. Y.; XIONG, M. Z.; ZHU, M. Z.; XU, J.; ZHANG, K. Q. Proteases from *Bacillus*: A new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, p. 262-269, 2007.

LIN, T.; ZHAO, L.; YANG, Y.; GUAN, Q.; GONG, M. Potential of endophytic bacteria isolated from *Sophora alopecuroides* nodule in biological control against *Verticillium* wilt disease. **Australian Journal of Crop Science**, v. 7, p. 139-146, 2013.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

MACHADO, A. C. Z.; ARAÚJO FILHO, J. V. de. Nematoides no arroz. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, v. 11 p. 12-15, 2010.

MACHADO, V.; BERLITZ, D. L.; MATSUMURA, A. T. S.; SANTIN, R. D. C. M.; GUIMARÃES, A.; SILVA, M. E. D.; FIUZA, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, v. 16, p. 165-182, 2012.

MATOS, D. L. **Reação de genótipos de arroz de terras altas a *Meloidogyne javanica***. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, UFMT CUS, Sinop, 2014.

MATTOS, V. D. S., SOARES, R., GOMES, A., ARIEIRA, C., GOMES, C.; CARNEIRO, R. Caracterização de um Complexo de Espécies do Nematóide das Galhas Parasitando Arroz Irrigado na Região Sul do Brasil. EMBRAPA- Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** **331**, 2017. 28 p.

MATTOS, V. da S. **Caracterização e identificação de populações de *Meloidogyne* spp. do arroz, estabelecimento de marcadores SCAR e seleção de novas fontes de resistência em *Oryza* spp. a *M. graminicola***. 2017. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

MICHEREFF, S.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. Manejo integrado de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S.J. et al. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, p. 367-388, 2005.

MICHEREFF, S.J. **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, 2008 - Área de fitossanidade (FITOPATOLOGIA I).

MITKOWSKLI, N. A.; ABAWI, G. S. Root-knot nematode. **The Plant Health Instructor**. doi:10.1094/PHI-I-2003-0917-01.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.) **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 7-14, 2009.

MOREIRA, F. J. C; SANTOS. C. D. G; INNECCO, R; SILVA, G. S. Controle alternativo de nematóide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 207-213, 2015.

MOURA DE SOUZA, V. H.; ROMA-ALMEIDA, R. C. C.; MELO, T. A.; REZENDE, D. C.; INOMOTO, M. M.; PASCHOLATI, S. F. Fitonematóides: controle biológico e indução de resistência. **RAPP**, v. 23, p. 242-292, 2015.

- NEGRETTI, R. R. D. ; MANICA-BERTO, R. ; AGOSTINETTO, D. ; GOMES, C. B. . Associação nefasta. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, p.10-11, mar. 2012.
- NEGRETTI, R. R.; GOMES, C. B.; MATTOS, V. S.; SOMAVILLA, L.; MANICA-BERTO, R.; AGOSTINETTO, D.; CASTAGNONE-SERENO, P.; CARNEIRO, R. M. D. G. Characterization of a *Meloidogyne* species complex parasitizing rice in southern Brazil. **Nematology**, v. 19, n. 4, p. 403-412, 2017.
- NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum Agronomy**. v. 32, n. 3, p. 403-409, 2010.
- PADGHAM, J. L.; DUXBURY, J. M.; MAZID, A. M.; ABAWI, G. S.; HOSSAIN, M. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 1, p. 42-48, 2004.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico: terminologia**, p. 143-164. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico no Brasil, parasitóides e predadores, São Paulo: Manole, p. 1-13, 2000.
- PEREIRA, J.A. **Cultura do arroz no Brasil**: subsídios para a sua história. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002. 226 p.
- PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. Root-knot nematodes. In: EISENBACK, J. D.; HUNT, D. J. **General morphology**. Virginia: CABI International, p. 18-54, 2009.
- PURNAWATI, A.; SASTRAHIDAYAT, I. R.; ABADI, A. L.; HADIASTONO, T. Endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease. **The Journal Of Tropical Life Science**, v. 4, p. 33-36, 2014.
- REIS, T. C. **Controle biológico com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e suas interações com *Palmistichus elaeisis* e glifosato**. 2018. Dissertação (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.
- RIBEIRO, N. R., **Variabilidade Intraespecífica de *Meloidogyne javanica* (Nematoda: Meloidogynedae) em soja no Brasil**. 2005 Dissertação (Mestrado em

Agronomia - Entomologia Agrícola) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2005.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 331-338, ago. 2006.

ROTILI, E. A.; FIDELIS, R. R.; SANTOS, M. M.; CASTRO-NETO, M. D.; KICHEL, E.; CANCELLIER, E. L. Eficiência no uso de fósforo de variedades de arroz cultivadas em solos de várzea irrigada. **Revista Ceres**, v. 57, n. 3, p. 415-420, mai/jun, 2010.

SIKORA, R.A.; HOFFMANN-HERGARTEN, S. Importance of plant health-promoting rhizobacteria for the control of soil-borne fungal disease and plant parasitic nematodes. **Arabien Journal of Plant Protection**, v. 10, n. 1, p. 53-48, 1992.

SOARES, M. R. C.; MIAMOTO, A.; CHIDICHIMA, L. P. S.; SANTOS, S. S.; DIAS, C. R. Suscetibilidade de cultivares de arroz a populações de *Meloidogyne* spp. 2019. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2019, Caldas Novas. **Anais [...]**. Caldas Novas: Universidade Estadual de Maringá, 2019.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas para o Sul do Brasil**. Cachoeirinha, RS: SOSBAI, 2018. 205 p.

SOUZA JUNIOR, I. T.; MOURA, A. B.; SCHAFFER, J. T.; CORRÊA, B. O.; GOMES, C. B. Biocontrole da queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 11, p. 1259-1267, nov. 2010.

SOUZA, B; DEBASTIANI, N. Produtos biológicos reduzem o nematoide das galhas no cultivo de arroz de sequeiro?. **Journal of Bioenergy and Food Science**. v. 2, n. 1, p. 32-38, 2015.

STEFFEN, R, B., ANTONIOLLI, Z. I.; KIST, G. P.; LUPATINI, M.; GOMES, C. B. Caracterização bioquímica do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em lavouras de arroz irrigado na região central do Rio Grande do Sul. **Ciência e Natura**, v. 29, p. 37-46, 2007.

STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; BOSENBECKER, V. K.; STEFFEN G. P. K.; LUPATINI, M.; CAMPOS, A. D.; GOMES, C. B. Avaliação de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne graminicola* em arroz irrigado. **Nematologia Brasileira**, p. 127-135, 2008.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: North Carolina State University, 1978. 111 p.

TIAN, B. Y.; YANG, J. K.; LIAN, L. H.; WANG, C. Y.; ZHANG, K. Q. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. **Microbiology and Biotechnology**, v. 74, p. 372-380, 2007.

TURATTO, M. F.; DOURADO, F. DOS S.; ZILLI, J. E. ; BOTELHO, G. R. Control potential of *Meloidogyne javanica* and *Ditylenchus* spp. using fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 49, n. 1, p. 54-59, 2018. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822018000100054&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 28 out. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2017.03.015>.

VAZ, M. V.; CANEDO, E. J.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, B. S.; LOPES, E. A. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. **Perquirere**, n. 8, v. 1, p. 203-212, 2011.

WANG, X.; WANG, L.; WANG, J.; JIN, P.; LIU, H. *Bacillus cereus* AR156- Induced resistance to *Colletotrichum acutatum* is associated with priming of defense responses in Loquat fruit. **Plos One**, v. 9, p. 112-494, 2014.

WHITEHEAD, A. G. **Plant nematode control**. CAB International, 1997.