

## Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro

Use of *Bacillus subtilis* in the control of root-knot nematode and the growth promotion in tomato

Fabio Fernando de Araújo<sup>1\*</sup> Gabriel Victor Poletto Marchesi<sup>1</sup>

### - NOTA -

#### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o efeito de *Bacillus subtilis* (PRBS-1) como promotor de crescimento e agente de supressão de nematóides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) no cultivo do tomateiro. Os tratamentos consistiram na aplicação de formulação contendo *B. subtilis* e o nematicida carbofuran. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante 85 dias, quando foram coletadas, sendo separada as raízes da parte aérea para avaliação do efeito dos tratamentos. A produção de massa fresca da parte aérea do tomate foi incrementada pelos tratamentos químico e biológico. A massa fresca de raízes foi reduzida com a aplicação de *B. subtilis*. O efeito do tratamento biológico sobre a reprodução do nematóide foi mais evidente pela redução de massas de ovos na raiz. O presente estudo indica que a estirpe PRBS-1 de *B. subtilis* promove o crescimento do tomateiro e reduz a reprodução de nematóide formador de galhas em raízes dessa planta, sob condições de casa de vegetação.

**Palavras-chave:** *Lycopersicon esculentum*, controle biológico, rizobactérias, *Meloidogyne*.

#### ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the *Bacillus subtilis* (PRBS-1) effect as growth promoter and suppressor agent of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in tomato cultivation. The treatments consisted in the application of *B. subtilis* formulation and of the nematicide carbofuran. The plants were maintained in greenhouse during 85 days, when the plants were collected. Roots were separated from aerial part of the plants to evaluate the treatments effect. The fresh matter production by the aerial part increased either by the chemical or by the biological treatments. The fresh matter of the roots was reduced with application *B. subtilis*. The effect of

the biological treatment on the nematode reproduction was more evident by the reduction of egg masses in the root. The present study indicates that the strain PRBS-1 of *B. subtilis* promotes tomato plant growth and reduces knoot-root nematode reproduction in tomato roots under greenhouse conditions.

**Key words:** *Lycopersicon esculentum*, biological control, rhizobacteria, *Meloidogyne*.

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é uma cultura de grande importância econômica, tendo como um dos principais problemas fitossanitários o parasitismo por nematóides do gênero *Meloidogyne*, que são formadores de galhas na raiz. Plantas infectadas apresentam dificuldades na absorção de água e nutrientes do solo, resultando em deficiência mineral e perda de produtividade da ordem de 25 a 85% (LOPES & SANTOS, 1994).

O controle dos nematóides no solo pode ser feito por diferentes métodos, destacando-se os métodos químico e biológico, que podem atuar como nematicidas ou podem alterar a reprodução e orientação do parasita em direção às raízes da planta hospedeira no solo (ARAUJO et al., 2002). Contudo, o controle biológico tem-se apresentado como alternativa mais viável para o manejo de fitonematóides, por minimizar o dano ambiental e ser mais vantajoso economicamente, comparado aos métodos químicos convencionais

<sup>1</sup>Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Rod. Raposo Tavares, Km 572, Bairro Limoeiro, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail [fabio@unoeste.br](mailto:fabio@unoeste.br). \*Autor para correspondência.

(COIMBRA & CAMPOS, 2005). Microrganismos da rizosfera, conhecidos como rizobactérias, têm proporcionado defesa contra o ataque de patógenos de solo em plantas (WELLER, 1988). Muitos microrganismos desse grupo são capazes de promover proteção substancial contra nematoses (SIDDIQUI et al., 2001). Estirpes selecionadas de *Bacillus subtilis* foram relatadas como antagonistas de nematóides formadores de galhas, podendo ser utilizadas no manejo de culturas econômicas, visando a reduzir os efeitos deletérios do parasita (LI et al., 2005). SHARMA & GOMES (1996) relataram que as endotoxinas produzidas por *B. subtilis* no solo interferem no ciclo reprodutivo dos nematóides, principalmente na oviposição e eclosão de juvenis. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito de *B. subtilis* como promotor de crescimento de plantas e supressão de nematóides formadores de galhas no cultivo do tomateiro.

O experimento foi desenvolvido na casa de vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade do oeste Paulista (UNOESTE), em Presidente Prudente, São Paulo (SP). Sementes de tomate da cultivar 'Santa Clara' foram semeadas em substrato comercial, acondicionado em bandejas de isopor. Após 28 dias, as mudas foram transplantadas para solo (5kg) acondicionado em vasos. O solo foi coletado de área de cultivo de tomate com infestação natural de nematóides formadores de galhas do gênero *Meloidogyne*, com uma concentração de 400 juvenis e 500 ovos de nematóides por 100g de solo, a qual foi determinada pela metodologia descrita por ARAUJO & BETTIOL (2005). A concentração de nematóides encontrada no solo representava uma comunidade de 20000 juvenis e 25000 ovos de nematóide por vaso, o que correspondia a 10 vezes mais a utilizada por SOUSA et al. (2006) em estudo de controle biológico de nematóide em tomateiro. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 85 dias com reposição diária de umidade do solo, visando a manter a capacidade de campo.

No laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade do oeste Paulista (UNOESTE), a estirpe PRBS-1 de *Bacillus subtilis*, isolada de solo sob cultivo de soja (ARAÚJO et al., 2005), foi multiplicada, durante sete dias, em 100mL de caldo nutriente. Decorrido esse período, o meio de cultura foi centrifugado, e o precipitado contendo as células de *B. subtilis* foi misturado com 100g de bentonita. Essa mistura foi homogeneizada e secada por 48 horas, em estufa (50°C), com ventilação forçada durante 24 horas. O produto final seco teve a concentração de *B. subtilis* avaliada pelo método de diluição em placas, com meio ágar nutriente, sendo encontrada a concentração de  $1,0 \times 10^9$  células g<sup>-1</sup>.

Para avaliação desse produto contendo *B. subtilis*, no controle da meloidoginose, 0,5g do produto por planta de tomate (com três dias após o transplante) foram aplicados em volta do caule da planta num raio de 2cm, visando à colonização da rizosfera. Esse tratamento foi comparado com o controle químico, usando o nematicida Carbofuran (FURADAN 350 CE), que foi aplicado no solo em volta do caule do tomateiro, na dosagem de 10µL do produto comercial por planta.

Para avaliação dos tratamentos, foram considerados três parâmetros de crescimento: altura das plantas, matéria fresca da parte aérea e raiz. As plantas foram coletadas aos 85 dias após o transplante, sendo separadas as raízes da parte aérea. As raízes e a parte aérea foram pesadas logo após a sua coleta para determinação da matéria fresca produzida. Foi avaliada a presença de massas de ovos nas raízes de tomate segundo escala de notas proposta por TAYLOR & SASSER (1978) (0=0; 1=1 a 2; 2=3 a 10; 3= 11 a 30; 4=31 a 100 e 5=mais de 100 massas de ovos). Em seguida, as raízes foram processadas segundo ARAUJO & BETTIOL (2005), para determinação do número de ovos e juvenis infestantes.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com cinco repetições. Para análise estatística dos dados, foi utilizado o programa SISVAR, empregando-se o teste t de comparação múltipla ( $P \leq 0,05$ ).

A altura da planta do tomateiro não foi influenciada pela presença da rizobactéria no solo (Tabela 1). Todavia, a produção de matéria fresca da parte aérea do tomate foi incrementada pelos tratamentos com o nematicida carbofuran e a bactéria *B. subtilis* após o transplante (Tabela 1). O aumento de matéria fresca da parte aérea, em plantas tratadas com *B. subtilis*, cultivadas em solo infestado com nematóides, foi relatado por LI et al. (2005). Quanto ao desenvolvimento radicular do tomateiro, observou-se que o tratamento com *B. subtilis* proporcionou produção de massa radicular inferior ao controle e semelhante ao tratamento com carbofuran. O maior crescimento da parte aérea de tomate tratado com *B. subtilis* caracteriza a bactéria como promotora de crescimento de planta, e esse efeito pode ser devido, em parte, à produção de fitoreguladores vegetais por *B. subtilis* na rizosfera (ARAÚJO et al., 2005).

O efeito do tratamento biológico sobre a reprodução do nematóide foi mais evidente na redução do número de juvenis (Figura 1a) e no desenvolvimento de massas de ovos na raiz (Figura 1b). Segundo MACIEL & FERRAZ (1996), o método biológico para controle de nematóides pode acontecer pela paralisação do ciclo ou, pelo menos, pela redução da capacidade

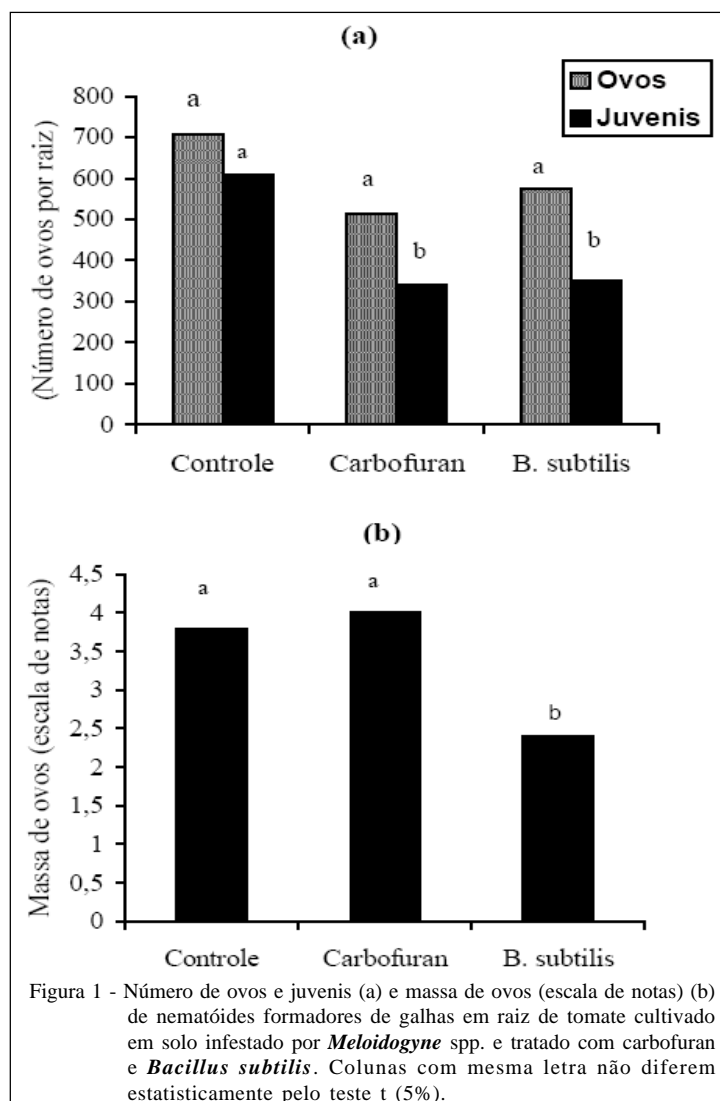
Tabela 1 - Parâmetros de crescimento de plantas de tomateiro tratadas com *Bacillus subtilis* e carbofuran e cultivadas em solo com infestação natural de nematóides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), em condições de casa de vegetação.

Tratamento	Altura de plantas (cm)	Matéria fresca da p. aérea (g)	Matéria fresca da raiz (g)
Controle	71,4 a*	114,1 b	68,3 a
Carbofuran	78,4 a	143,2 a	56,1 ab
<i>Bacillus subtilis</i>	70,4 a	146,6 a	30,5 b
CV (%)	10,7	15,4	19,6

\* Médias seguidas de mesma letra em cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste t (5%).

reprodutiva do parasita. Além disso, a transformação dos exsudatos radiculares em subprodutos pela ação dos microrganismos pode fazer com que o nematóide não reconheça o estímulo quimiotrópico e continue movimentando-se no solo até morrer (FREITAS, 2001). Esse mesmo autor também cita que as rizobactérias ou

seus metabólitos desencadeiam reações de hipersensibilidade nas células vegetais, impedindo que as fêmeas dos nematóides consigam energia suficiente para produzir ovos. Além disso, também já foi relatado que antagonistas no solo podem degradar a massa gelatinosa que envolve os ovos, reduzindo sua



proteção, principalmente pelo aumento da desidratação (ORION & KRITZMAN, 1991). SOUSA et al. (2006) observaram que a redução do número de massa de ovos de nematóides em raízes de tomate também foi proporcionada por controle biológico, efetivado pelo tratamento das mudas com estreptomicetos. KHAN et al. (2007) demonstraram que o tratamento de sementes de feijão com *B. subtilis* também resultou na supressão de formação de galhas e reprodução do nematóide inoculado no solo. O modo de ação de *B. subtilis* sobre a bactéria ainda precisa ser mais bem avaliado, porém, o efeito da bactéria sobre os exsudatos radiculares e a consequente desorientação do nematóide devem ser considerados (ARAÚJO et al., 2002). OKA et al. (1993) relataram atividade nematicida do *B. cereus* sobre ovos e juvenis, e a exposição do nematóide a essa bactéria inibiu a penetração do parasita nas raízes de tomateiro. A redução na produção de raízes, em tomate cultivado em solo infestado com nematóides e submetido ao tratamento com *B. subtilis* reforça a sugestão de ABRÃO & MAZZAFERA (2001) de que a emissão de novas raízes secundárias e o aumento da massa radicular é consequência da infecção dos nematóides.

*Bacillus subtilis* (PRBS-1) aumenta a biomassa da parte aérea e reduz a reprodução dos nematóides formadores de galhas em raiz de tomate, apresentando potencial para uso em programas de manejo integrado da meloidoginose em tomateiro.

## REFERÊNCIAS

- ABRÃO, M.M.; MAZZAFERA, P. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. **Bragantia**, v.60, p.19-26, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0006-87052001000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052001000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>. doi: 10.1590/S0006-87052001000100003.
- ARAÚJO, F.F. et al. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, v.32, n.2, p.197-203, 2002. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782002000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782002000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). doi: 10.1590/S0103-84782002000200003.
- ARAÚJO, F.F.; BETTIOL, W. Supressividade dos nematóides *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em soja por adição de lodo de esgoto ao solo. **Ciência Rural**, v.35, p.806-812, 2005. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782005000400009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000400009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). doi: 10.1590/S0103-84782005000400009
- ARAÚJO, F.F.; et al. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.1639-1645, 2005. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/y8n378648625737w/>>. doi: 10.1007/s11274-005-3621-x.
- COIMBRA, J.L.; CAMPOS V.P. Efeito de exsudatos de colônias e de filtrados de culturas de actinomicetos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p.232-238, 2005.
- FREITAS, L.G. **Rizobactérias versus nematóides**. 2001. Acesso em: abr. 2005. On line. Disponível em: <http://www.ufv.br/dpf/labnematologia/rizo.pdf>.
- KHAN, M.R. et al. 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.
- LI, B.J. et al. Suppression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal Zhejiang Univ SCI**, v.6, p.496-501, 2005.
- LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. 67p.
- MACIEL, S.L.; FERRAZ, L.C.C.B. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agricola**, v.53, p.956-960, 1996.
- OKA, Y. et al. Control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. **Biocontrol Science and Technology**, v.3, p.115-126, 1993. Disponível em: <<http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all?content=10.1080/09583159309355267>>. doi: 10.1080/09583159309355267.
- ORION, D.; KRITZMAN, G. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. **Revue Nematologie**, v.14, p.481-483, 1991.
- SHARMA, R.D.; GOMES, A.C. Effect of *Bacillus* spp. toxins on oviposition and juvenile hatching of *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, v.20, p.53-62, 1996.
- SIDDIQI, Z.A. et al. Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. **Applied Soil Ecology**, v.16, p.179-185, 2001.
- SOUSA, C.S. et al. Estreptomicetos no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1759-1766, 2006.
- TAYLOR, A.L.; SASSER, J.N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogynes species)**. Raleigh: North Carolina State University, 1978. 111p.
- WELLER, D.M. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review Phytopathology** v.26, p.379-407, 1988.