

15º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP - 2024

Avaliação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus velezensis* na supressão de nematoides na cultura de almeirão

LUIZ FERNANDO MARQUES¹, NATÁLIA DE SOUZA CRUZ², ANTONIO JOSÉ RADÍ³,
ALEXANDRE MORAES CARDOSO⁴

¹ Graduando – Bacharelado em Agronomia, Bolsista PIBIFSP, IFSP, Campus Barretos, luiz.marquez@aluno.ifsp.edu.br

² Graduanda – Bacharelado em Agronomia, Campus Barretos, natalia.cruz@aluno.ifsp.edu.br

³ Docente Campus Barretos, antonioradi@ifsp.edu.br

⁴ Docente Campus Barretos, amcardoso@ifsp.edu.br

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 5.01.01.04-8 Ciências Agrárias

RESUMO: Os fitonematoides constituem-se em uma das principais ameaças à produção agropecuária, protagonizando perdas que ultrapassam uma centena de bilhões de dólares em todo o mundo. São milhares de espécies identificadas com potencial de causar grandes danos a inúmeras espécies vegetais. O controle de fitonematoides é bastante dificultado pela sua localização e pelo tamanho microscópico, comprometendo (dificultando) a identificação de sua presença nas áreas cultivadas. Desse modo, a utilização de insumos biológicos vem se revelando como uma interessante estratégia no manejo desses parasitas, onde algumas espécies de rizobactérias promotoras do desenvolvimento de plantas apresentam efeitos protetores e antagonistas à penetração de nematoides no tecido radicular. Em um contexto em que áreas dedicadas à olericultura apresentam-se infectadas por nematoides, o presente trabalho possui o objetivo de avaliar a eficiência das rizobactérias *Bacillus subtilis* e *Bacillus velezensis* no controle de fitonematoides fitoparasitas em plantas de almeirão.

PALAVRAS-CHAVE: fitonematoides; rizobactérias; controle; olericultura

Evaluation of *Bacillus subtilis* and *Bacillus velezensis* in the suppression of nematode in chicory culture.

ABSTRACT: Phytonematodes are specifically one of the main threats to agricultural production, leading to losses that exceeded a hundred billion dollars worldwide. There are thousands of species identified with the potential to cause great damage to countless plant species. The control of phytonematodes is quite difficult due to their location and microscopic size, compromising (making it difficult) the identification of their presence in cultivated areas. Therefore, the use of biological control has proven to be an interesting strategy in the management of these parasites, where some species of rhizobacteria that promote plant development have protective and antagonistic effects on the penetration of nematodes into the root tissue. In a context in which areas dedicated to horticulture are infected by nematodes, the present work aims to evaluate the efficiency of the rhizobacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus velezensis* in controlling phytoparasitic phytonematodes in chicory plants.

KEYWORDS: Phytonematodes, rhizobacteria, control, vegetable cultivation.

INTRODUÇÃO

Fitonematoides são parasitas microscópicos responsáveis por importantes perdas nos cultivos em nível global, uma vez que a presença desses organismos nos tecidos vegetais provoca a interrupção total ou parcial no transporte de água e nutrientes, lesionando o sistema radicular e predispondo as plantas a infecções secundárias por fungos e bactérias (Desmedt et al., 2020).

Dentre as mais de 4.000 espécies de nematoides parasitas de plantas catalogadas, destacam-se em potencial de danos os nematoides causadores de galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp., onde representantes como *M. incognita* e *M. javanica* são capazes de se alimentar de um grande número de espécies vegetais (Kaloshian; Teixeira, 2019).

Os principais sintomas da infecção de nematoides em plantas são a clorose de folhas, redução no desenvolvimento, senescência precoce, displasia das raízes com formação de galhas e atrofia do sistema radicular (Fan et al., 2023). Os danos ao sistema radicular reduzem a absorção de água e nutrientes pelas plantas, fazendo decrescer significativamente o potencial produtivo das culturas.

Neste cenário, o controle biológico vem ganhando espaço em diversos segmentos fitossanitários como estratégia para a redução no uso de químico-sintéticos. No que tange a fitonematoides, trabalhos utilizando *B. velezensis* e *B. subtilis*, em associação ou isoladamente, no controle de nematoides, apresentam resultados promissores e a utilização dessas bactérias vêm ganhando abrangência junto a produtores rurais (Silva et al., 2022; Wu et al., 2023; Kamalanathan; Sevugapperumal; Nallusamy, 2023).

O almeirão, espécie vegetal alvo nesse trabalho de pesquisa, também muito afetada por fitonematoides, uma hortaliça folhosa de ciclo curto e consumo in natura, exige métodos de manejo de patógenos que minimizem os riscos para produtores, trabalhadores, consumidores e o meio ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio vem sendo conduzido com almeirão, *Cichorium intybus*, desde início de agosto de 2024. Conforme Köppen e Geiger (Climate data, 2024), o clima do local do ensaio é classificado como tropical Aw., com temperatura média de 23,6° C e pluviosidade média anual de 1363 mm distribuída predominantemente no verão.

O solo da área experimental é classificado como latossolo vermelho-amarelo distrófico, não álico, textura média (Santos et al., 2018), cuja análise granulométrica resultou em 77,8% de areia, 18,7% de argila e 3,4% de silte. As características químicas e os níveis de fertilidade do solo foram conhecidos através dos resultados de análise química do solo, que embasaram a correção da acidez e o aporte de fertilizantes, conforme recomendações técnicas para a cultura (Trani et al., 2022). Análise nematológica da área, conforme preconizado por Zamboni *et al.*, (2019), revelou a presença dos gêneros *Pratylenchus* spp., *Rotylenchus* spp. e *Helicotylenchus* spp.

O preparo do canteiro ocorreu no dia anterior do transplantio com auxílio de encanteiradora. As mudas (adquiridas de produtor de mudas em viveiro Certificado) foram transplantadas quando apresentaram o 2º. par de folhas definitivas, em 3 linhas (dispostas no centro do canteiro) com espaçamento de 25X25 cm. Cada parcela foi composta por 24 plantas, totalizando 576 plantas distribuídas em uma área útil de 48 m². Os tratamentos utilizados foram constituídos pelo uso de *Bacillus subtilis* (ESALQ – EpD2-5) e *Bacillus velezensis* (ESALQ-RZ1MS9) nas seguintes dosagens: 0, 100, 200, 300, 400 e 500 ml/ha, aplicados (via inoculação das mudas) imediatamente antes do transplantio. Para manter a umidade do solo e contribuir com a supressão de plantas daninhas, desde o transplantio vem sendo mantida sobre o canteiro uma cobertura morta de palha (raleada) feita com resto cultural de braquiária. As regas vêm sendo realizadas 2 vezes/dia por sistema de gotejamento automatizado com uso de fitas. Conforme necessidade, o manejo de plantas daninhas vem sendo realizado de forma manual (monda) e o manejo de pragas (basicamente mosca branca, cigarrinhas, vaquinhas e tripses) tem sido feito por aplicação de azadiractina (0,12 %) em todas as parcelas do ensaio.

Visando avaliar possíveis efeitos do uso dos microrganismos no desenvolvimento das plantas, foram analisadas três variáveis: **número de folhas (NF)** – contando-se o número de folhas maiores que 2,0 cm e sem dano visual; **altura da planta (AP)** - acessada com auxílio de uma régua a partir da base do caule da planta até a última folha expandida e **área foliar (AF)** - obtida através de fotografia da parte aérea das plantas, sendo que estas imagens (obtidas com auxílio de *smartphone* e tripé) foram analisadas pelo software ImageJ que calculou a área das referidas plantas. Os dados das variáveis foram obtidos considerando-se 4 plantas/parcela, e foram analisados estatisticamente com o auxílio do Software R (R Core Team, 2023) quanto à homogeneidade das variâncias e à normalidade dos resíduos por intermédio dos testes de Bartlett e Shapiro-Wilk respectivamente. Uma vez atendidos os

pressupostos da análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Nos casos de análise não-paramétrica, foi utilizado o teste de Friedman ($\alpha < 0.05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis altura de plantas (AP), área da parte aérea (AF) e número de folhas (NF) não apresentaram valores estatisticamente diferentes para os tratamentos avaliados (Figuras 1, 2 e 3). Embora os dados das variáveis analisadas até o momento não apresentassem diferenças significativas, é importante ser destacado que conforme Pimentel-Gomes (1985), os coeficientes de variação para ensaios de campo podem ser considerados intermediários para valores entre 10% e 20% (observados para AP) e “muito altos” se forem maiores que 30% (observados para AF e NF). Uma das possibilidades que pode ter contribuído para a tendência deste alto índice de variação é o fator de estresse abiótico relacionado com as altas temperaturas médias (ultrapassando 30° C) somadas aos índices muito baixos (menos de 20%, em média) de umidade relativa do ar observados no local do ensaio durante a maioria do tempo de realização do mesmo.

Além das condições climáticas adversas já citadas, outro componente que pode interferir na relação de microrganismos com o manejo/presença de nematoides é o próprio solo, em sua condição física e química conforme demonstrado por Costa (2021) em soja. Neste caso, ficou evidente que ambientes de produção com presença relevante de matéria orgânica e níveis satisfatórios de nutrientes podem contribuir na supressão da população de nematoides. A área do presente estudo apresenta 78% de areia em sua composição granulométrica e teores de matéria orgânica ao redor de 1%, características que podem estar favorecendo a ação dos parasitas. Ainda em soja, Debiasi (2016) demonstrou que a acidez do solo (pH) e seus efeitos sobre a disponibilidade de nutrientes podem interferir nos sintomas ocasionados às plantas. Apenas para registro, Silva *et al.* (2017) citam que o aumento nos teores de P em cana de açúcar podem induzir aumento da síntese proteica, atividade celular e produção de peroxidases e polifenóis, tornado as plantas menos atrativas à ação do nematoide.

Os resultados obtidos até o momento não evidenciam a ação supressora às populações de nematoides pelos isolados utilizados; não obstante, faz-se importante destacar que o manejo destes parasitas é um grande desafio e ainda, que o controle biológico é uma importante ferramenta no Manejo Integrado de Nematoides (Min) no Brasil e no mundo (Machado, 2022) pois os defensivos sintéticos vêm sendo considerados insustentáveis, fato que gera necessidade da busca por métodos de manejo mais ecológicos (El-Saadony *et al.*, 2022).

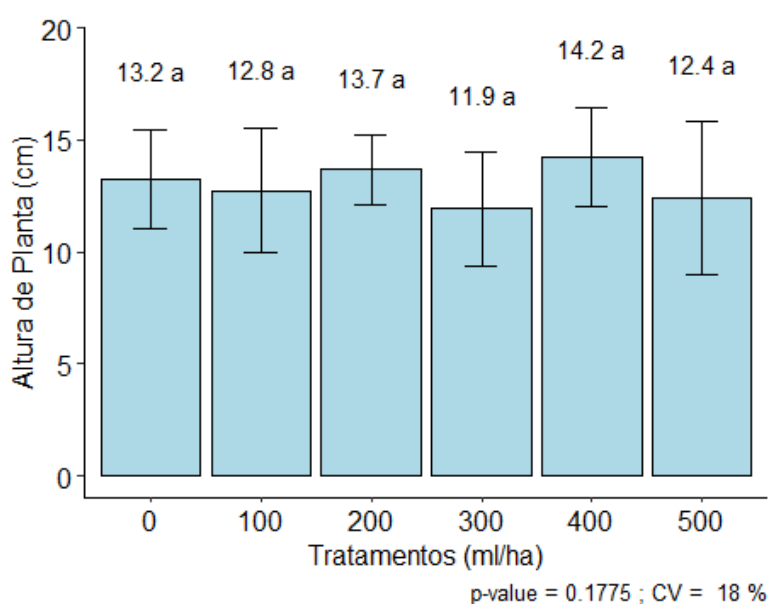


Figura 1. Altura de plantas (AP) de almeirão cultivadas sob diferentes dosagens de isolados bacterianos. Barretos, 2024.

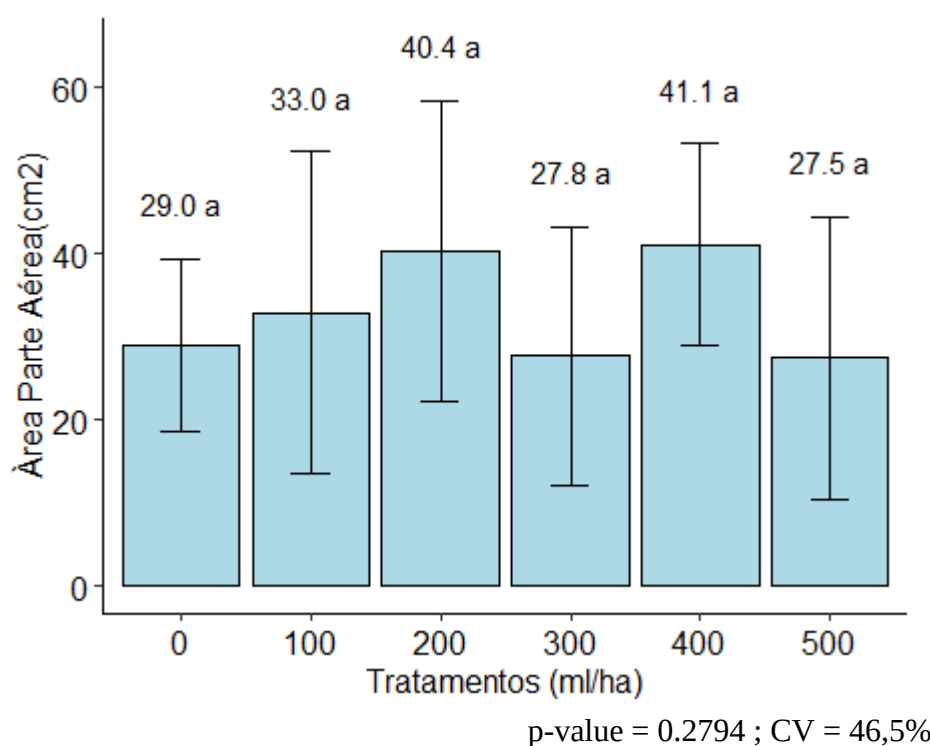


Figura 2. Área de parte aérea (AF) de plantas de almeirão cultivadas sob diferentes dosagens de isolados bacterianos. Barretos, 2024.

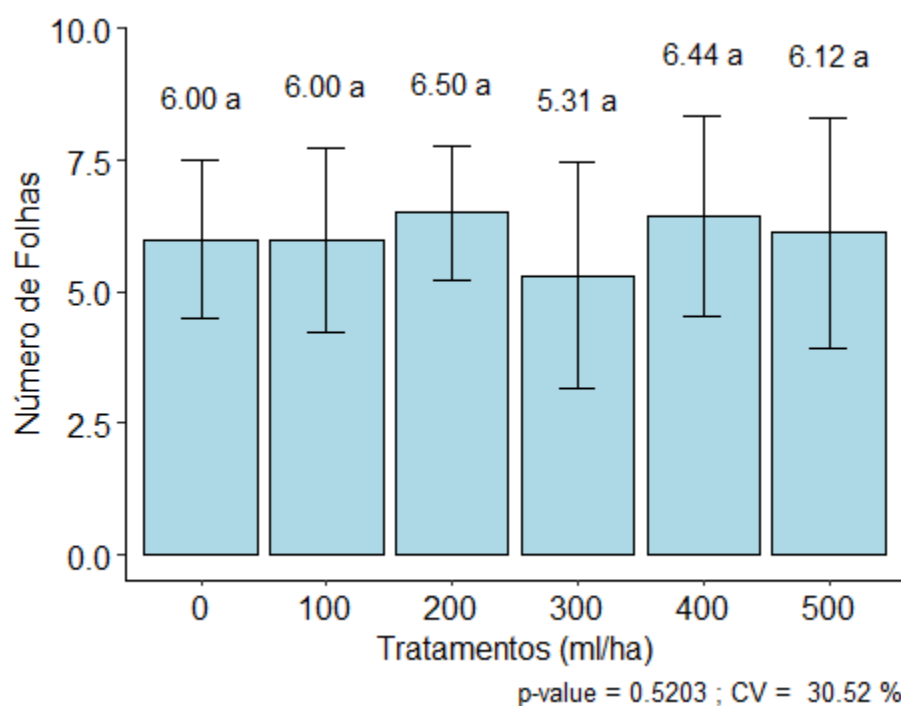


Figura 3. Número de folhas (NF) de plantas de almeirão cultivadas sob diferentes dosagens de isolados bacterianos. Barretos, 2024.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos até o presente momento, pode-se concluir que os isolados bacterianos não influenciaram o desenvolvimento das plantas para as variáveis analisadas. Novos resultados ainda serão obtidos em função das futuras avaliações para massa (seca e fresca) da parte aérea, da raiz e da parte aérea com a raiz.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Luiz Fernando Marques e Natália de Souza Cruz contribuíram com a pesquisa, a curadoria de dados e a redação do manuscrito original. Antonio José Radi e Alexandre Moraes Cardoso contribuíram com a conceitualização, a análise de dados, a metodologia, a administração do projeto, a disponibilização de ferramentas, a supervisão, a validação de dados do experimento e a redação – revisão e edição.

AGRADECIMENTOS

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o processo de aprendizado.

REFERÊNCIAS

BASYONY, A. G.; ABO-ZAID, G. A. Biocontrol of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, using an eco-friendly formulation from *Bacillus subtilis*, lab. and greenhouse studies. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 87, p.1-13, 2018.

CLIMATE DATA, 2024. Disponível em <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/sao-paulo/barretos-4232/> Acesso em: 03 fev. 2024.

COSTA, M.J.N. da. **Revisão Anual de Patologia de Planta**, v.27, p. 32-50. 2021.

DEBIASI, H. *et al.* Produtividade da soja e densidade populacional do nematoide das lesões radiculares em função da correção do solo com calcário, gesso e potássio. In: 57 Reunião de Pesquisa de Soja, 35, 2016, Londrina, **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2016. 3 p.

EL-SAADONY *et al.* Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: mechanisms, challenges and future perspectives. **Front. Plant Sci**, 13:923880. 2022.

GAMALERO, E.; GLICK, B. R. The use of plant growth-promoting bacteria to prevent nematode damage to plants. **Biology**, v. 9, n. 381, p.1-13. 2020.

KAMALANATHAN, V.; SEVUGAPPERUMAL, N.; NALLUSAMY, S. Antagonistic bacteria *Bacillus velezensis* VB7 possess nematocidal action and induce an immune response to suppress the infection of root-knot nematode (RNK) in tomato. **Genes**, v. 14, n. 1335, p.13-19. 2023.

KALOSHIAN, I.; TEIXEIRA, M. Advances in plant_nematode interactions with emphasis on the notorious nematode genus *Meloidogyne*. **Phytopathology**, v. 109, n. 12, p. 1988-1996. 2019.

MACHADO, A.C.Z. Bionematicides in Brazil: an emerging and challenging market. **Revisão Anual de Patologia de Planta**, v.28, p. 35-49. 2022.

MESA-VALE, C. M. *et al.* Global research on plant nematodes. **Agronomy**, v. 10, n. 1148, p.2-11. 2020.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. São Paulo:Esalq, 1985. 46p.

R CORE TEAM. *_R: A Language and Environment for Statistical Computing_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2023. Disponível em: <https://www.R-project.org/> . Acesso em: 15 dez. 2023.

RALMI, N. H. A. A.; KHANDAKER, M. M.; MAT, N. Occurrence and control of root knot nematode in crops: A review. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 12, p. 1649-1654. 2016.

SANTOS, H. G. dos *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5 ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SILVA, L.M.A. *et al.* Seasonal variation of plant-parasitic nematodes and relationship with nutritional and growth properties of sugarcane plantations. **Trop. Plant Pathol.**, DOI [10.1007/s40858-017-0129-5](https://doi.org/10.1007/s40858-017-0129-5), 2017

SILVA, K. C. L. *et al.* Biocontrol of plant parasitic-nematodes by soil in soybean cultivation. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, e118111536768, 2022 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i15.36768>, 2022

TRANI, P. E. *et al.* Hortaliças. In: **Boletim 100: recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Ed. Cantarella et al. Campinas, Instituto Agrônômico, 2022. p. 339-427.

WU, W. *et al.* Volatic organic compounds of *Bacillus velezensis* GJ-7 against *Meloidogyne hapla* through multiple prevention and control modes. **Molecules**, v. 28, n. 3182, p. 1-13. 2023.

ZAMBONI, A.C. *et al.* **Métodos em Nematologia Agrícola**. Piracicaba: Sociedade Brasileiro de Nematologia. 184p. 2019.