

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES  
CLAROS**

**CONTROLE BIOLÓGICO DE  
FITONEMATOIDES NA CULTURA DA  
BANANEIRA NO NORTE DE MINAS GERAIS**

**CYNTHIA PIRES GUIMARÃES**

**2011**

**CYNTHIA PIRES GUIMARÃES**

**CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATOIDES NA CULTURA DA  
BANANEIRA NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

**Orientador**  
**Prof. D.Sc. Edson Hiydu Mizobutsi**

**JANAÚBA**  
**MINAS GERAIS-BRASIL**  
**2011**

G963c      Guimarães, Cynthia Pires.  
                 Controle biológico de fitonematoides na  
                 cultura da bananeira no Norte de Minas Gerais  
                 [manuscrito] / Cynthia Pires Guimarães. – 2011.  
                 90 p.

                 Dissertação (mestrado)-Programa de Pós-  
                 Graduação em Produção Vegetal no Semiárido,  
                 Universidade Estadual de Montes Claros-  
                 Unimontes, 2011.  
                 Orientador: Prof<sup>o</sup>. D.Sc. Edson Hiydu

                 Mizobutsi

**CYNTHIA PIRES GUIMARÃES**

**CONTROLE BIOLÓGICO DE FITONEMATOIDES NA CULTURA DA  
BANANEIRA NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

**APROVADA em 14 de fevereiro de 2011.**

Prof. PhD. Leandro Grassi de  
Freitas  
UFV

Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Regina Cássia  
Ferreira Ribeiro  
UNIMONTES

Pesq. D.Sc. Wânia dos Santos  
Neves  
EPAMIG-URECO

Prof<sup>a</sup>. D.Sc. Adélica Aparecida  
Xavier  
UNIMONTES

Prof. D.Sc. Edson Hiydu Mizobutsi  
UNIMONTES  
(Orientador)

**JANAÚBA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2011**

**Aos meus pais Dudu e Nailde,  
meus grandes exemplos de  
caráter, dinamismo e amor.  
Aos meus irmãos Gu e Nel pela  
força, amizade, dedicação e  
compreensão; meus sobrinhos  
Dey, Xel, João e Iasmim; Vó  
Ipe, Piu e Amora, por tudo,  
sobretudo o AMOR,**

**DEDICO.**

## **Agradecimentos**

A Deus, pela vida, pelo amor e pela força.

A toda a minha família, que viveu comigo cada momento desta caminhada.

Aos meus tios e primos, pela amizade e pela torcida para que tudo desse sempre certo.

À Unimontes, pela oportunidade de realização do Mestrado em Produção Vegetal.

Ao CNPq e CAPES pela concessão de bolsas de estudo.

Ao meu orientador Prof. Edson Hiydu Mizobutsi, pelo convite para trabalhar nesse projeto e pela atenção, confiança, amizade e ensinamentos repassados.

Ao co-orientador Leandro Grassi de Freitas, pelo apoio, profissionalismo, empenho e otimismo para que essa pesquisa transcorresse da melhor maneira possível.

À pesquisadora e amiga Wânia dos Santos Neves pela colaboração ímpar, além do apoio, alegria, conhecimento e profissionalismo.

À Thalita, pela amizade, ajuda incondicional, presteza e companheirismo.

Aos professores da Unimontes, por fazerem parte da minha formação e por toda ajuda durante o curso.

Aos proprietários das áreas, Sr. Nuno Casassanta e Sr. Wilson Cruz, bem como o engenheiro agrônomo Abdalla Ganem e os funcionários Mazinho, Cido e Wesley, pela colaboração e atenção durante o experimento.

Aos professores Sidney Tavares dos Reis (UNIMONTES) e Júlio César Neves (UFV) pelo apoio nas análises estatísticas.

Às Professoras Regina Cássia Ferreira Ribeiro e Adelica Aparecida Xavier pelos exemplos de profissionalismo e pela excelência dos conhecimentos repassados.

A todos os colegas do Mestrado Malu, Irani, Suzi, Raissa, Pedro, Joseilton, Franklin, Guilherme, Jaíba, Gláucia, Wander, Bruno, Arquimedes, Renata, Gevaldo pela ótima convivência e apoio nas disciplinas;

Aos colegas de laboratório Jose, Marina, Raíssa, Martiele, Raul, Bruna e Amanda pela convivência e grandiosa ajuda nas coletas de campo.

À Epamig, pela concessão do Laboratório de Nematologia para o processamento das amostras.

Aos funcionários da Epamig, em especial D.Sc. Wânia dos Santos Neves, D.Sc. Pollyana Mara, D.Sc. Ariane, Dui, Aninha, Erlane, Marina, Analice, Márcia, Paulo, Dona Thê, Geralda, Di, pela excelente convivência e amizade durante os trabalhos.

Aos motoristas da Unimontes, Fábio, Elivelton e Werner pela presteza e colaboração durante o experimento.

Especialmente, aos grandes e verdadeiros amigos Jaque, Mi, Alessandro, Malu, Iran, Irani, Mônica, Bruno, Cibele, Cássio, por fazerem parte da minha vida.

**“A reunião de todas as nossas ansiedades não poderá alterar nosso destino; somente nosso empenho, determinação e vontade no momento presente é que poderá transformá-lo para melhor.”**

**Francisco do Espírito Santo Neto (HAMMED)**

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xv</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
2.1 Controle de fitonematoides por rizobactérias.....	12
2.2 Controle de fitonematoides por <i>Pasteuria penetrans</i> .....	15
2.3 Controle de fitonematoides por <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
3.1 Multiplicação dos microrganismos em laboratório .....	20
3.1.1 Multiplicação de <i>Pasteuria penetrans</i> .....	20
3.1.2 Produção e formulação de <i>Bacillus subtilis</i> .....	21
3.1.3 Produção de clamidósporos de <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	22
3.2 Ensaio de campo em área de cultivo comercial na cultura da bananeira em Janaúba - MG.....	22
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>62</b>



## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** – Média do número de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. por 20g de raízes de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG. .... 28
- TABELA 2** - Média do número de nematoides do gênero *Radopholus similis* por 20g de raízes de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG. .... 31
- TABELA 3** - Média do número de nematoides do gênero *Helicotylenchus multicinctus* por 20 g raízes de bananeiras, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG. .... 32
- TABELA 4** - Número médio de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. por 20 g de raízes de bananeiras, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região de Janaúba – MG. .... 35
- TABELA 5** - Número médio de *Radopholus similis* por 20 g de raízes de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região de Janaúba – MG. .... 37
- TABELA 6** - Número médio de *Helicotylenchus multicinctus* por 20 g de raízes de bananeiras, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região de Janaúba – MG. .... 39
- TABELA 7** – Número médio de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. em 50cc de solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a

<p>nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG. ....</p> <p>TABELA 8 - Número médio de nematoides <i>Radopholus similis</i> em 50cc de solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG. ....</p> <p>TABELA 9 - Número médio de nematoides <i>Helicotylenchus multicinctus</i> em 50 cc de solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG. ....</p> <p>TABELA 10 - Número médio de nematoides <i>Meloidogyne</i> sp. em 50cc solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região e Janaúba – MG. ....</p> <p>TABELA 11 - Número médio de <i>Radopholus similis</i> em 50 cc de solo de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetido a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2 na região e Janaúba – MG. ....</p> <p>TABELA 12 - Número médio de <i>Helicotylenchus multicinctus</i> em 50 cc de solo de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2 na região de Janaúba – MG. ....</p> <p>TABELA 13 – Número de unidades formadoras de colônias (UFC) do fungo <i>Pochonia chlamydosporia</i>, em amostras de solo retiradas das parcelas submetidas a nove tratamentos, nas duas áreas experimentais, na região e Janaúba, MG. ....</p> <p>TABELA 14 – Composição química e física do solo das duas áreas experimentais. ....</p>	<p>41</p> <p>42</p> <p>44</p> <p>46</p> <p>48</p> <p>49</p> <p>50</p> <p>52</p>
--	---

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1-** Médias de temperaturas mínimas, médias e máximas do ar, umidade relativa do ar e precipitação em Janaúba, MG, no período de condução dos dois experimentos de campo de março/2009 a julho/2010..... 54
- FIGURA 2 –** Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em raízes de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A1:Área 1; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos)... 56
- FIGURA 3 –** Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em raízes de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A2:Área2; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos)... 57
- FIGURA 4 –** Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em solo de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de

nove repetições. (A1:Área 1; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos)... 58

**FIGURA 5 – Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em solo de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A2:Área 2; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos)... 59**

## RESUMO

GUIMARÃES, Cynthia Pires. **Controle biológico de fitonematoides na cultura da bananeira no Norte de Minas Gerais** 2011. 52p. Dissertação (Mestrado em produção Vegetal no Semiárido) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.<sup>1</sup>

A banana é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo produzida na maioria dos países tropicais. O Norte de Minas Gerais é o terceiro maior produtor de banana do país, após o Vale do Ribeira em São Paulo e o Norte de Santa Catarina. Dentre os problemas de cultivo da bananeira, estão as doenças, causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Nematoides são fatores limitantes de produtividade em muitas regiões produtoras de banana, onde as espécies *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae*, *Meloidogyne* spp. são encontradas isoladamente ou em misturas populacionais, e comprometem a absorção e transporte de água e nutrientes pelo sistema radicular, provocam o tombamento de plantas e as predispõem ao ataque de outros micro-organismos. O controle destes fitonematoides geralmente é realizado com a utilização de nematicidas. Este método tem apresentado pouca eficácia devido a problemas de biodegradação, seleção de nematoides resistentes aos produtos aplicados, uso excessivo, contaminações de pessoas e meio ambiente, entre outros. Dentre as alternativas para a redução do uso de agrotóxicos, o controle biológico é um dos mais discutidos e pode ser definido como o controle de um microrganismo através da ação direta de outro microrganismo. Os organismos que exercem o controle biológico são denominados antagonistas. A bactéria *Pasteuria penetrans*, o fungo *Pochonia chlamydosporia* e as rizobactérias *Bacillus subtilis* são promissores agentes de controle biológico de nematoides, devido à sobrevivência prolongada de seus esporos no solo, inocuidade ao homem e aos outros animais, e o possível uso em conjunto com práticas culturais. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a redução das populações dos nematoides *Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *Radopholus similis* e *P. coffeae* pelos micro-organismos antagonistas *P. penetrans*, *P. chlamydosporia* e *B. subtilis*, em áreas de cultivo comercial de bananeira, na região de Janaúba – MG. O experimento foi conduzido em duas áreas de cultivo comercial de bananeira Prata-Anã (*Musa* spp., grupo AAB),

---

<sup>1</sup> **Comitê de orientação:** Prof. Edson Hiydu Mizobutsi – DCA/UNIMONTES (orientador); Prof. Leandro Grassi de Freitas – Departamento de Fitopatologia/UFV; Pesq. Wânia dos Santos Neves – EPAMIG – CTCO; Prof. Regina Cássia Ferreira Ribeiro – DCA/UNIMONTES; Prof. Adelica Aparecida Xavier – DCA/UNIMONTES.

irrigados por microaspersão, no município de Janaúba – MG, no período de março de 2009 a junho de 2010. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Foram feitas amostragens antes e depois da aplicação dos tratamentos. As amostragens consistiram na extração de solo e raízes, na profundidade de 0 a 20 cm e 10 cm de distância de cada uma das quatro plantas que compuseram a parcela. Os tratamentos consistiram de: T1: *Pochonia chlamydosporia* ; T2: *Bacillus subtilis*; T3: *Pasteuria penetrans*; T4: *P. chlamydosporia* + *B. subtilis*; T5: *P. chlamydosporia* + *P. penetrans*; T6: *P. penetrans* + *B. subtilis*; T7: *P. chlamydosporia* + *P. penetrans* + *B. subtilis*; T8: Testemunha; T9: Carbofuran (Furadan) 350 SC. As médias dos tratamentos foram submetidas à estatística não-paramétrica Kruskal-Wallis. Houve redução das populações de todos os gêneros de nematoides após a aplicação dos tratamentos e, ao longo do experimento, estas não voltaram a subir o que denota a eficiência dos agentes de controle biológico de forma geral. O teste de persistência no solo do fungo *P. chlamydosporia* realizado após o término das extrações comprovou ter havido a dispersão do fungo para todas as parcelas das duas áreas experimentais.

## ABSTRACT

GUIMARÃES, Cynthia Pires. **Biological control of phytonematode in the banana tree culture in North of Minas Gerais, 2011.** (Dissertation for Master's degree in Vegetal Production in the Semi arid) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.<sup>1</sup>

Banana is one of the most consumed fruit in the world, and it is produced mostly in tropical countries. The North of Minas Gerais is the third biggest banana producer in the country, following Vale da Ribeira in São Paulo and the North of Santa Catarina. Among the problems of the banana tree cultivation, there are the diseases caused by fungi, bacteria, viruses and nematodes. Nematodes are limiting factors of the productivity in many banana- producing regions where the species *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae*, *Meloidogyne* spp. are found isolated or in population mixtures, and they interfere in the absorption and transportation of water and nutrients through the root system, and cause the tumbling of the plants and predispose them to the attack of other micro-organisms. The control of these phytonematodes is generally done using nematicides. This method has presented low efficiency due to the biodegradation problems, selection of resistant nematodes to the applied products, overuse, contamination of people and environment, and others. Among the alternatives to reduce the use of the pesticides, the biological control is one of the most discussed and can be defined as the control of one micro-organism from the direct action of the another micro-organism. The organisms engaged in the biological control are called antagonists. The bacteria *Pasteuria penetrans*, the fungus *Pochonia chlamydosporia* and the rhizobacteria *Bacillus subtilis* are promising agents of nematodes biological control, due to the prolonged survival of its spores in soil, harmless to the human being and to other animals, and the possible use with the cultural practices. The aim of this work was to evaluate the reduction of the nematodes population

---

<sup>1</sup> **Committee of orientation:** Prof. Edson Hiydu Mizobutsi – DCA/UNIMONTES (orientador); Prof. Leandro Grassi de Freitas – Departamento de Fitopatologia/UFV; Pesq. Wânia dos Santos Neves – EPAMIG – CTCO; Prof. Regina Cássia Ferreira Ribeiro – DCA/UNIMONTES; Prof. Adelica Aparecida Xavier – DCA/UNIMONTES.

*Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *Radopholus similis* e *P. coffeae* by the antagonist micro-organisms *P. penetrans*, *P. chlamydosporia* e *B. subtilis*, in areas of commercial cultivation of the banana tree, in Janaúba – M.G. The experiment was conducted in two areas of commercial cultivation of the Prata-anã banana tree in (*Musa* spp., group AAB), irrigated by micro sprinkler, in Janaúba – M.G., from March 2009 to June 2010. The experimental design was entirely randomized. Samples were made before and after the treatment application. The samples consisted in the extraction of the soil and roots, in depth of 0 to 20cm and 10cm away from each of the four plants that composed the portion. The treatments consisted of T1: *Pochonia chlamydosporia* ; T2: *Bacillus subtilis*; T3: *Pasteuria penetrans*; T4: *P. chlamydosporia* + *B. subtilis*; T5: *P. chlamydosporia* + *P. penetrans*; T6: *P. penetrans* + *B. subtilis*; T7: *P. chlamydosporia* + *P. penetrans* + *B. subtilis*; T8: Testemunha; T9: Carbofuran (Furadan) 350 SC. The average of the treatment was submitted to the nonparametric Statistics Kruskal Wallis. There was a reduction of the population at all genres of the nematodes after the application of the treatment, and over the experiment they did not increase again, denoting the efficiency of the agents from the biological control. The soil test of persistence in the fungus *P. chlamydosporia* performed after the end of the extractions proved that had been the dispersion of the fungus to all parcels of the two experimental areas.



## 1 INTRODUÇÃO

A banana é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo produzida na maioria dos países tropicais. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, porém quase toda a produção destina-se ao mercado interno, cuja preferência se dá por cultivares do grupo AAB, subgrupo Prata (IBGE, 2009).

Fitonematoides são fatores limitantes de produtividade em muitas regiões produtoras de banana, onde as espécies *Radopholus similis* (Cobb, 1919) Goodey, 1933, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956, *Pratylenchus coffeae* (Zimmerman) Filipjev & Shuurmans-Stekhoven, *Meloidogyne* spp. (principalmente *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub) Chitwood) são encontradas isoladamente ou em misturas populacionais (DINARDO-MIRANDA e FRACASSO, 2010). A absorção e transporte de água e nutrientes pelo sistema radicular são diretamente afetados em detrimento do ataque desses nematoides, provocando o tombamento de plantas e predispondo-as ao ataque de outros micro-organismos.

O controle destes fitonematoides geralmente é realizado com a utilização de nematicidas carbamatos e organofosforados. Este método tem apresentado pouca eficácia devido a problemas de uso excessivo, o que resulta na seleção de nematoides resistentes aos produtos aplicados, biodegradação dos princípios ativos no solo, contaminações de pessoas durante a aplicação e ingestão de resíduos nos frutos, impacto ambiental pela morte de animais por ingestão e poluição do meio ambiente, principalmente da água do lençol freático pela percolação dos ingredientes ativos tóxicos com a chuva ou irrigação, entre outros.

O uso variedades resistentes é uma maneira natural e altamente recomendável de controlar pragas e doenças. Contudo, no caso específico de nematoides, são poucas as variedades de bananeira resistentes disponíveis para

os agricultores e, mesmo assim, a resistência geralmente é direcionada a umas poucas espécies de nematoides consideradas mais importantes para determinadas culturas. Além disso, há falta de adaptabilidade dos cultivares resistentes a determinadas regiões ou inadequação das características agronômicas dos frutos perante o mercado consumidor. A rotação de culturas é muito útil para o manejo de algumas espécies de nematoides, como *Heterodera glycines*, mas é complicada para culturas perenes como banana e para nematoides com ampla gama de hospedeiros, como *Meloidogyne* spp..

Entre as alternativas para a redução do uso de agrotóxicos o controle biológico é um dos mais discutidos e pode ser definido como o controle de um microrganismo através da ação direta de outro microrganismo, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (COOK e BAKER, 1983).

O controle biológico pode ocorrer tanto alterando as condições ambientais a fim de promover a atividade de micro-organismos antagonistas já presentes na área de interesse, como também realizando a introdução de um ou mais agentes de controle biológico previamente selecionados (MORANDI e BETTIOL, 2009).

O Brasil e outros países, que tem na agricultura a base da sua economia, já sentem a necessidade de alimentos mais saudáveis e começam a implantar sistemas mais sustentáveis de produção integrada, onde o controle biológico é a ferramenta indispensável (LOPES, 2009).

Na literatura são relatados vários exemplos de micro-organismos utilizados, com sucesso, no controle de fitopatógenos, sobretudo de nematoides (FERREIRA *et al.*, 2008; CHEN e DABIRÉ *et al.*, 2007; SIKORA *et al.*, 2007; FABRY, 2006; MONFORT *et. al.*, 2004; AHREN e TUNLID, 2003; SIDDIQUI e SHAUKAT, 2003; BORDALLO *et al.*, 2002; HIDALGO-DIAZ *et al.*, 2000; KERRY, 2000; DICKSON, 1998; CHEN *et al.*, 1996).

O fungo *Pochonia chlamydosporia* Zare & Gams, a bactéria *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Star e as rizobactérias, principalmente do gênero *Bacillus*, têm sido muito pesquisados pela comunidade científica, com abrangência tanto em estações experimentais quanto em campos agrícolas. FREITAS *et al.* (2009a) relatam a utilização de *P. penetrans* em campos de cultivo de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), no Maranhão e fumo (*Nicotiana tabacum*) em Santa Catarina, altamente infestados pelos nematoides das galhas *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. Através de acompanhamentos e avaliações periódicas, foi constatado o controle dos nematoides, bem como a disseminação e multiplicação da bactéria no campo, tornando o solo supressivo. A combinação de *P. chlamydosporia* com farinha de sementes de abóbora reduziu em mais de 90% a população de *M. javanica* em tomateiro (DALLEMOLE-GIARETTA *et al.*, 2010). Coimbra *et al.* (2005) testaram isolados de rizobactérias no controle de *M. javanica* em tomateiro, em dois experimentos instalados em duas épocas diferentes, em casa de vegetação. Dos 92 isolados, 47 demonstraram exercer antagonismo a *Meloidogyne javanica*, e desses, 34 isolados reduziram o número de galhas por planta.

Diante disso, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a redução das populações dos nematoides *Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *Radopholus similis* e *P. coffeae* pelos micro-organismos antagonistas *P. penetrans*, *P. chlamydosporia* e *B. subtilis*, em áreas de cultivo comercial de bananeira, na região de Janaúba – MG.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo, tanto no que se refere à produção quanto à comercialização. Para muitos países, além de ser um alimento complementar da dieta da população, a banana apresenta grande relevância social e econômica, servindo como fonte de renda para muitas famílias de agricultores. Gera postos de trabalho no campo e na cidade e contribui para o desenvolvimento das regiões envolvidas na produção. Para outros países, ela é um produto de exportação responsável por uma parte muito significativa dos ingressos relativos à exportação agrícola (FIORAVANÇO, 2003). É a segunda fruta mais produzida no Brasil, perdendo apenas para a laranja. Consumida pelas mais diversas camadas da população, a banana se faz presente na mesa dos brasileiros não apenas como sobremesa, mas como alimento, com um consumo per capita em torno de 25 kg/ano (FANCELLI, 2003).

De acordo com dados da FAO (2009), a produção brasileira foi estimada em 7.194 milhões de toneladas em 512 mil hectares em 2009, totalizando um rendimento médio de 14,00 t.ha<sup>-1</sup>. Todos os estados brasileiros produzem banana, sendo os cinco principais produtores São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais e Pará.

O Norte de Minas Gerais é o terceiro maior produtor de banana do país, após o Vale do Ribeira em São Paulo e a região Norte de Santa Catarina (RODRIGUES e LEITE, 2008). Abrange uma área plantada de cerca de doze mil hectares nas áreas de influência dos perímetros de irrigação do semiárido. Mais de 80% da área plantada concentra-se nos municípios de Nova Porteirinha, Jaíba, Janaúba, Matias Cardoso e Verdelândia (RODRIGUES e LEITE, 2008), totalizando um rendimento médio de 115 ton.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2009).

A bananicultura brasileira, na maioria das áreas de produção caracteriza-se pelo baixo nível técnico dos cultivos, o que favorece a uma maior intensidade de problemas fitossanitários que contribuem para a baixa produtividade e qualidade dos frutos que são produzidos em nosso país. Em função da diversidade climática em que as bananeiras são cultivadas no Brasil e do próprio domínio de cultivares como as do subgrupo Prata, as doenças assumem importância regional, que variam com o clima e a cultivar plantada. São várias as doenças que afetam a bananeira, causadas por agentes fitopatogênicos tais como fungos, bactérias, vírus e nematoides (COSTA, 2003)

Os nematoides constituem o grupo de organismos pluricelulares mais abundantes no planeta (KIMPINSKI e STURZ, 2003). Geralmente são classificados segundo seu hábito nutricional. Compõem um dos grupos mais importantes de parasitas de plantas, pois causam grandes reduções na produção agrícola. Os fitonematoides alimentam-se e reproduzem-se em plantas vivas, podendo migrar para a região rizosférica, para dentro das raízes, ou em direção à parte aérea.

De acordo com Dias-Arieira *et al.* (2008), o parasitismo por nematoides em bananeiras caracteriza-se pela infestação simultânea de várias espécies. Os mais prejudiciais são os endoparasitas migradores *Radopholus similis*, algumas espécies de *Pratylenchus* e os ectoparasitas *Helicotylenchus multicinctus*. É comum encontrar ainda os endoparasitas sedentários *Meloidogyne* spp.

A bananeira é uma das fruteiras em que os danos às raízes causados por estes patógenos são bastante evidentes, forçando os produtores a adotarem medidas de controle, o que eleva o custo de produção. Os nematoides causam perdas de aproximadamente 19,7% ao ano para esta cultura, o que resulta em prejuízos para o produtor e elevação dos preços para o consumidor. Em termos mundiais, considera-se que essas perdas sejam de aproximadamente 100 bilhões

de dólares por ano, para as culturas de modo geral (SASSER e FRECKMAN, 1987).

A agressividade de populações de nematoides sobre dada planta hospedeira é consequência da capacidade reprodutiva (comparação da velocidade de multiplicação de diferentes populações em uma determinada hospedeira) (SHANER *et al.*, 1992) e virulência do patógeno, que é a capacidade de infectar e se reproduzir na planta hospedeira (ANDRIVON *et al.*, 1993)

De acordo com Costa (2003), no Brasil *H. multincinctus* é encontrado com frequência em associação à rizosfera de bananeiras, por exemplo, em infestações mistas com *R. similis* e/ou *Meloidogyne* spp., cujos danos causados são diretamente proporcionais às suas populações. Plantas menores, amareladas, mostrando sintomas mais evidentes de deficiências nutricionais, com pouca resistência à falta d'água ou a extremos de temperatura, produção reduzida e eventual morte prematura são alguns indicadores da ação desses patógenos (FREITAS *et al.*, 2009b). Estes danos estão relacionados com a densidade populacional do nematoide, a idade da planta, a textura e o tipo de solo, além do pH e das características genéticas da cultivar (QUÉNÉHERVÉ, 1988).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são tidos como os mais importantes porque têm uma distribuição geográfica ampla, apresentam uma enorme gama de hospedeiros e causam grandes danos às culturas (FREITAS *et al.*, 2009b). De acordo com Dias-Arieira (2008), entre as espécies de nematoides das galhas, *M. incognita* e *M. javanica* são as que ocorrem com frequência em todos os estados brasileiros onde se cultivam bananeiras. Tal dispersão se deve à comercialização indiscriminada de mudas infestadas entre os bananicultores ou pela introdução do parasita em áreas, através de outras plantas hospedeiras (ZEM, 1982 citado por DIAS-ARIEIRA, 2008). Jesus e Wilcken (2010) relatam que espécies de *Meloidogyne* podem causar redução significativa na massa do

cacho de várias cultivares de bananeira. Os nematoides desse gênero *Meloidogyne*, que estabelecem sítios de alimentação nos feixes vasculares das raízes e interrompem a absorção de água e sais minerais do solo para a parte aérea da planta, atuam como dreno de fotoassimilados e, no caso da banana, também tem importância muito grande ao aumentar a incidência do mal-do-Panamá causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Interações entre nematoides do gênero *Meloidogyne* e diversas *formae speciales* de *Fusarium* são bastante conhecidas na literatura (ABAWI e CHEN, 1998; FRANCE e ABAWI, 1994; MAI e ABAWI, 1987; POWER, 1971; SIKORA, 1987; WEBSTER, 1985).

*Radopholus similis* é considerado o principal nematoide da bananeira, ocorrendo na maioria das regiões produtoras do mundo (DIAS-ARIEIRA, 2008).

Segundo Costa (2003), a denominação “nematoide cavernícola”, atribuída a essa espécie, é devido aos sintomas causados por ele no córtex das raízes e rizomas de bananeiras, em virtude da ação do endoparasitismo migratório. Ao movimentar-se e ferir os tecidos das raízes e rizomas, o nematoide cavernícola pode favorecer a entrada de fungos, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, causador do mal-do-Panamá (DIAS-ARIEIRA, 2008).

O ciclo de hospedeiros de *R. similis* inclui, além da bananeira, plantas de várias famílias botânicas, destacando-se cana-de-açúcar, milho, café e algumas ornamentais, chá e gengibre. No entanto, no Brasil causa prejuízos apenas na bananeira e na fruteira-do-conde (CAMPOS *et al.* (2002), citado por DIAS-ARIEIRA, 2008).

Existem diferentes espécies de nematoides espiralados associados à bananeira, mas *H. multicinctus* é a espécie de maior importância, causando em algumas regiões produtoras perdas elevadas (VENTURA e HINZ, 2002). É um

nematoide endoparasita migrador de ampla distribuição geográfica. Em várias regiões produtoras de banana, ocorre associado a *R. similis* e *Meloidogyne* spp..

Com a finalidade de diminuir perdas ocasionadas pelo ataque destes micro-organismos, nos últimos anos a utilização do controle integrado dos fitonematoides, explorando a combinação de várias medidas de controle, vem aumentando no Brasil e no mundo. O sucesso econômico e ecológico do manejo desses fitopatógenos requer a adoção de medidas de manejo combinadas, tais como controle biológico, medidas de exclusão (inspeção e certificação de sementes e mudas; barreiras quarentenárias; tratamento térmico e biológico de sementes e mudas; cultura de tecidos (indexação); restrição de movimentação de máquinas, implementos e pessoas da área infestada para a área sadia e limpeza de máquinas e equipamentos), rotação de culturas, utilização de plantas antagonistas, controle químico, variedades resistentes e outras (KRZYZANOWSKI, 2006).

O modelo predominante da agricultura convencional, que tem como base o retorno econômico imediato, preconiza o controle de problemas fitossanitários quase exclusivamente pela aplicação continuada e em larga escala de agroquímicos. Assim, têm surgido diversos problemas como contaminação de alimentos, solo, água, intoxicação de agricultores, resistência de patógenos a certos princípios ativos dos agroquímicos, surgimento de doenças iatrogênicas, desequilíbrio biológico com alterações da ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica, eliminação de organismos benéficos e redução da biodiversidade (MORANDI *et al.*, 2009a) além da ocorrência de resíduos em alimentos em níveis acima do limite aceitável.

Visando a necessidade de sistemas de produção mais sustentáveis, surgiram as chamadas novas alternativas de agricultura, que, na realidade, resgatam as técnicas empregadas há milhares de anos. Tais técnicas são consideradas como ecologicamente corretas, evidenciando-se principalmente, a



preocupação com a proteção ao meio ambiente e à saúde humana (MIZUBUTI e MAFFIA, 2001).

Um dos enfoques da agricultura alternativa é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (BETTIOL, 1991).

O controle biológico insere-se como opção ecológica aos métodos tradicionais de controle (FREITAS s.d.). Pode ser definido como o controle de um microrganismo através da ação direta de outro microrganismo, denominado antagonista, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (COOK e BAKER, 1983). Segundo Costa *et al.* (2002), o conhecimento desses mecanismos é de fundamental importância para aumentar as vantagens competitivas do ambiente.

O biocontrole de doenças radiculares é a área mais desenvolvida de biocontrole de doenças de plantas, com exemplos clássicos como o controle de *Agrobacterium tumefaciens*, agente da galha em coroa em diversas culturas, por *A. radiobacter*. A introdução de micro-organismos adaptados ao microhabitat do patógeno é um dos aspectos mais relevantes para o sucesso de um programa de controle biológico de doenças de plantas. Neste contexto, diversos micro-organismos são isolados, selecionados e utilizados como agentes biocontroladores de doenças. Muitos fungos e bactérias têm sido testados no controle de doenças radiculares, alguns com sucesso comprovado, e muitos outros com grande potencial de uso. Neste caso, tem-se descrito como potenciais agentes de biocontrole: *Trichoderma* sp., *Gliocladium virens*, *Talaromyces flavus*, *Pythium oligandrum*, *Coniothyrium minitans*, *Sporidesmium sclerotivorum*, *Peniophora gigantea*, *Penicillium* spp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *Pochonia chlamydosporia* e *Pasteuria penetrans*. Alguns desses micro-organismos apresentam especialização,

parasitando um determinado microrganismo patogênico, enquanto outros são capazes de inibir uma variada gama de patógenos (MELO, 1998).

O controle biológico possibilita o resgate do equilíbrio populacional de nematoides no ecossistema natural, a partir do uso destes antagonistas. A busca por antagonistas eficientes e o desenvolvimento de produtos para veiculá-los são o propósito de muitas pesquisas (MIZUBUTI e MAFFIA, 2006).

De acordo com Bettiol (1991), um organismo é considerado um bom agente biológico quando apresenta como características, boa capacidade de colonização e competitividade no ambiente do patógeno; requerimentos nutricionais semelhantes aos do patógeno alvo; adaptação ao meio ambiente do patógeno; resistência a fatores ambientais como temperatura, dessecação, radiação, químicos; fácil cultivo ou multiplicação, aplicação, formulação; não ser patogênico ao homem ou animais; não ser fitopatogênico virulento; capacidade de atuar em diferentes plantas hospedeiras e amplo espectro de ação, contra diferentes patógenos; compatibilidade com agrotóxicos para uso em controle integrado e com outros antagonistas para uso em misturas; sobrevivência, persistência e capacidade de redistribuição; baixa frequência de mutações.

Após a introdução de um agente microbiano de biocontrole, haverá o seu estabelecimento em um nicho, seguido da interação com o organismo alvo e outras espécies de organismos. Essas complexas interações são fundamentais para o sucesso do controle, devendo ser analisadas de modo holístico e consideradas a longo, e não em curto prazo (GHINI e BETTIOL, 2009).

O controle de fitonematoides é uma tarefa difícil, uma vez que, havendo sua introdução em uma área agrícola, sua erradicação torna-se praticamente impossível. Geralmente o produtor precisa conviver com o patógeno através do manejo dos níveis populacionais no solo (FERRAZ e VALLE, 2001).

Segundo Freitas (2006), a qualidade dos alimentos provenientes da agricultura convencional tem sido questionada. Assim, a demanda por frutos isentos de resíduos químicos e de elevado valor nutricional tem aumentado significativamente, tanto no mercado interno quanto no externo, o que tem motivado muitos agricultores a converter sua produção convencional em orgânica. A preocupação da sociedade com o impacto da agricultura no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com agrotóxicos está alterando o cenário agrícola, resultando em mercados de alimentos produzidos sem o uso de agrotóxicos ou aqueles com selos que garantem que os agrotóxicos foram utilizados adequadamente (MORANDI e BETTIOL, 2009).

Baptista *et al.* (2007) enfatizam que a necessidade de se estabelecerem medidas de controle mais eficientes, com maior enfoque em questões ambientais e o desenvolvimento dos sistemas de produção orgânica têm, recentemente, estimulado as pesquisas voltadas a medidas de controle que sejam eficientes e que não causem danos ao meio ambiente.

Órgãos governamentais e outras agências de fomento, não só nos países desenvolvidos, como também no Brasil, iniciaram programas visando o desenvolvimento de tecnologias alternativas aos agroquímicos, com ênfase nos mais prejudiciais ao homem e ao ambiente (PATRÍCIO, 2007).

Nos últimos anos, como o brometo de metila foi incluído entre os compostos apontados como responsáveis pela redução na camada de ozônio da atmosfera, restrições ao seu uso e/ou o seu completo banimento foram impostos mundialmente (RISTAINO e THOMAS, 1997), e teve, recentemente, seu registro cancelado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sendo assim, vê-se a necessidade de se estabelecerem técnicas que visem o desenvolvimento e difusão de métodos alternativos ao seu uso para a desinfestação de solos e substratos.

Freitas (2006) relata que a bactéria *Pasteuria penetrans*, o fungo *Pochonia chlamydosporia* e as rizobactérias *Bacillus subtilis* são promissores agentes de controle biológico de nematoides, devido à sobrevivência prolongada de seus esporos no solo, inocuidade ao homem e aos outros animais, e o possível uso em conjunto com práticas culturais. Além disso, estes micro-organismos têm modo de ação complementar, fazendo com que a aplicação conjunta resulte em controle mais eficaz dos nematoides do que se fossem aplicados separados.

## **2.1 Controle de fitonematoides por rizobactérias**

A rizosfera, palavra de origem grega criada a partir dos termos “rhizo” e “sphaera” expressa o volume de solo influenciado pela raiz até a distância de 5mm. Segundo Stafford *et al.* (2005), o conhecimento das ações microbianas é crucial para entender os processos de estabelecimento e de manutenção da rizosfera, bem como do crescimento e da saúde das plantas.

As rizobactérias, também denominadas de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (PGPR), são colonizadoras agressivas das raízes, podem promover incremento no crescimento de plantas e ocasionalmente podem atuar como agentes antagonistas de micro-organismos fitopatogênicos, sobretudo de nematoides (STAFFORD *et al.*, 2005). A principal vantagem de se trabalhar com rizobactérias está na abundância de sua ocorrência no solo, além da facilidade na produção massal e do preparo de formulações comerciais. Essas bactérias têm vantagens sobre os fungos, pois a rizosfera das plantas, onde crescem, constitui ambiente relativamente estável, com ilimitada e contínua fonte de nutrientes provida pelos exsudatos radiculares (SCHONBECK *et al.*, 1988).

Ferraz *et al.* (2010) relatam que as PGPR aumentam a disponibilidade de nutrientes para a planta e podem produzir combinações e concentrações de

substâncias promotoras de crescimento. Entretanto, o maior efeito dessas rizobactérias é o de suprimir patógenos de plantas e rizobactérias deletérias ao crescimento de plantas.

A maioria das rizobactérias pertence aos gêneros *Pseudomonas* ou *Bacillus*, mas também são relatadas espécies de outros gêneros, como *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Hydrogenophaga*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Azospirillum*. De acordo com Freitas (s.d.) existem poucos estudos específicos que comprovem o modo de ação das rizobactérias sobre os fitonematoides. Este autor sugere que podem agir de forma direta, afetando a eclosão ou a mobilidade dos juvenis e tendo seus antibióticos e toxinas absorvidos pelos ovos ou indireta, pela alteração dos exsudatos radiculares ou pela indução de resistência sistêmica. Como exemplos dos efeitos de rizobactérias na produção pode-se citar o aumento de até 48% na produção de cenoura com a inoculação de *B. subtilis*, 37% na produção e nodulação de amendoim, também com *B. subtilis* e de 33% na produção de ervilha com a inoculação de *Pseudomonas* sp. (MELO, s.d.).

Em pesquisa realizada por Araújo *et al.* (2001), foi observado que uma solução contendo *B. subtilis* reduziu significativamente a eclosão de juvenis de *Heterodera glycines*, *in vitro*, comparando-se com soluções de exsudatos não tratados com a bactéria. Esses autores observaram também que o tratamento de raízes de soja com a bactéria inibiu a migração de larvas de juvenis de *Heterodera glycines* para a planta, em comparação com a raiz não tratada. Nos ensaios de casa de vegetação, observou-se uma redução do número de fêmeas na raiz de soja quando o solo ou as sementes foram tratados previamente com formulação pó-molhável ou calda contendo a bactéria.

Neves *et al.* (2000) testaram dez isolados com constatado efeito de indução de resistência à *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* no controle de *M. javanica* e *M. incognita* em tomateiro. Foram observadas reduções de até 77,4 %

no número de ovos e 66,4% no número de galhas em relação ao controle não tratado, mas isolados que apresentaram maior controle de *M. javanica* não foram os mais eficientes para *M. incognita* e vice-versa, indicando especificidade para as espécies do nematoide.

Em estudo realizado por Fabry *et al.* (2008) foi avaliado o efeito de suspensões aquosas de *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas putida*, *Enterobacter intermedius* e *Acidovorax facilis* sobre a eclosão de juvenis de *M. javanica in vitro*. *Citrobacter freundii*, *E. intermedius* e *A. facilis* reduziram significativamente a eclosão de *M. javanica*, sendo que a última foi a mais efetiva, reduzindo a eclosão em 85,7%.

De acordo com Costa e Ventura (2002), na China, Tu e Cheng (1982) e Tu *et al.*, (1980) trabalhando com bananeiras do subgrupo Cavendish e com a raça 4 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, obtiveram redução da severidade da doença em 3-13% quando adicionaram, em solo previamente infestado, suspensão de bactérias antagonistas (*Clostridium* e *Bacillus* spp.), isoladamente ou em combinação com incorporação de *Crotalaria* sp..

Melo (s.d.) enfatiza que, recentemente, os trabalhos com utilização de rizobactérias têm sido intensificados, principalmente por causa do aumento do interesse em alternativas para o controle de fitopatógenos, bem como por causa da substituição de produtos químicos que, além de aumentarem o custo de produção, geram problemas de contaminação ao meio ambiente e podem afetar os seres vivos. Essas bactérias são, também, passíveis de serem empregadas como inoculantes comerciais, facilitando dessa forma, sua utilização pelos agricultores.

## 2.2 Controle de fitonematoides por *Pasteuria penetrans*

*Pasteuria penetrans* é uma bactéria considerada como um dos mais promissores agentes de controle biológico de nematoides. Dentre as características que a colocam nesse patamar, estão sobrevivência por longos períodos no solo, resistência ao calor e à dessecação, elevado potencial reprodutivo, inocuidade ao homem e a outros animais, compatibilidade com inúmeros pesticidas, fertilizantes e outros organismos de biocontrole. Além disso, não é afetada por práticas culturais comumente adotadas por agricultores, seus endósporos podem ser armazenados por mais de 11 anos sem perda da viabilidade e não possui nenhum inimigo natural descrito até o momento (STAR e SAYRE, 1988). É uma bactéria endoparasita formadora de esporos (ou endósporos), que são estruturas unicelulares resistentes e sem motilidade. Os endósporos permanecem dormentes no solo até que o juvenil de segundo estágio do nematoide das galhas (J2) entre em contato com eles. Por isso essa bactéria é considerada muito rústica.

O processo de redução da população de *Meloidogyne* sp. por *P. penetrans* se dá em duas etapas. Inicialmente, em solo com baixas concentrações de endósporos da bactéria, os juvenis se encontram com poucos endósporos no seu caminho em busca da raiz e a penetram com poucos endósporos aderidos à sua cutícula. Desta forma, a infectividade dos juvenis não é seriamente afetada (BROWN e SMART, 1985), porém as fêmeas resultantes desses juvenis não produzirão ovos, pois a bactéria ganha a competição por nutrientes no interior da fêmea. Quando cada uma dessas fêmeas entra em senescência, cerca de dois milhões de endósporos de *P. penetrans* são liberados no solo. A segunda fase do controle do nematoide ocorre quando a concentração de endósporos da bactéria é alta e muitos endósporos aderem-se aos juvenis impedindo que eles se locomovam até as raízes e as penetrem (STIRLING, 1984). Quando isto ocorre,

considera-se que o solo tornou-se supressivo e a população do nematoide tende a cair drasticamente. (FREITAS *et al.*, 2009a).

Exemplo de solo supressivo no Brasil foi a introdução da bactéria em área de 170 m<sup>2</sup>, em cultivo irrigado de jaborandi, no Maranhão. Esta área representa uma pequena parcela de um plantio de 102,4 ha de Jaborandi, irrigado por um pivô central e em solo com alta infestação de *M. javanica*. Após três anos, a bactéria havia se espalhado por toda a área e se multiplicado a ponto de tornar o solo supressivo e levar a população de nematoide abaixo do nível de dano econômico (FREITAS *et al.*; 2009a).

Algumas características como resistência às condições extremas de umidade e temperatura, sobrevivência prolongada na ausência do hospedeiro no solo, longa vida de armazenamento na forma de inóculo de pó de raiz, compatibilidade com outros métodos de controle e grande capacidade de disseminação, fazem com que seu uso como nematocida biológico seja muito desejado por agricultores e profissionais da área agrícola.

Apesar de alguns autores atestarem que *P. penetrans* possui alto grau de especificidade, Freitas *et al.*, (2009a) ressaltam que um mesmo isolado dessa bactéria pode aderir e se reproduzir em diferentes populações, espécies e até mesmo gênero de fitonematoides, causando supressividade.

Rodrigues *et al.* (2002) removeram os esporângios que envolviam os endósporos de *P. penetrans* com o objetivo de obter mais eficiência na adesão desses à cutícula dos nematoides. Esses autores testaram também o corte da parte aérea e a suspensão da irrigação durante o experimento. Dentre as espécies vegetais utilizadas, o tomateiro e o fumo apresentaram os melhores resultados com o desenvolvimento mais rápido da bactéria que nos demais. Houve aceleração da maturação dos endósporos de *P. penetrans* em todas as partes da planta.



A falta de um meio de cultura para crescimento *in vitro* impede a produção em larga escala da bactéria. Entretanto, a produção *in vivo*, em nematoides, é relativamente simples e pode corresponder à obtenção de quantidades significativas de endósporos que, se aplicados numa estratégia inoculativa, em condições ideais para o desenvolvimento da bactéria, proporcionarão o aumento gradual de *P. penetrans* no solo, reduzindo o número de nematoides abaixo do nível de dano econômico. Alves *et al.* (2007) avaliaram a adição de esterco de curral ao substrato para proporcionar esse aumento, pois plantas cultivadas em solo orgânico se desenvolvem mais vigorosamente, com sistemas radiculares maiores e se tornam capazes de tolerar uma carga maior de nematoides. Esses autores concluíram que o acréscimo das menores doses (20%) de esterco de curral é desejável, pois resultou em maior produção de endósporos de *P. penetrans* por vaso.

Quaisquer condições que sejam propícias para a multiplicação acelerada do nematoide são ótimas para o desenvolvimento de *P. penetrans*. Em geral, condições de solo arenoso, altas temperaturas, monocultivo de culturas suscetíveis ou tolerantes ao nematoide e sob irrigação constante resultam, com o passar dos anos, em problemas sérios com nematoides. Áreas de pivô central ou estufas são exemplos destas condições. Como *P. penetrans* necessita do nematoide para se reproduzir, quanto mais nematoides ocorrerem na área, mais rápido a mesma tornará o solo supressivo.

### **2.3 Controle de fitonematoides por *Pochonia chlamydosporia***

Fungos nematófagos são organismos que apresentam a capacidade de capturar, matar e digerir os nematoides. Eles compreendem três grupos distintos: os endoparasitas, os predadores e os parasitas de ovos. Por

serem muito dependentes de água, os endoparasitas têm pequeno potencial de uso prático (LOPES, 2007)

*Pochonia chlamydosporia* é um fungo parasita facultativo de ovos e tem se mostrado potencial no controle biológico de nematoides (KERRY e DIAZ, s.d.), sobretudo devido à sua capacidade saprofítica e o fácil crescimento *in vitro*.

Segundo Lopes *et al.* (2007), os primeiros experimentos para o controle de nematoides utilizando fungos nematófagos foram realizados no Havaí, por Linford e Yap (1939). Os pesquisadores testaram a eficiência de *Arthrobotrys oligospora*, *Monacrosporium ellipsosporum*, *Arthrobotrys musiformis*, *Dactylaria cândida* e *Monacrosporium thaumasium*, no controle de *Meloidogyne* spp., em plantas de abacaxi (*Ananas comosus*).

Kerry e Hidalgo-Dias (2004) desenvolveram um sistema de manejo integrado de controle de nematoides de galhas em cultivos orgânicos baseado no uso de *P. chlamydosporia*. Este isolado está sendo produzido em massa em Cuba e comercializado com o nome de KlamiC (FREITAS *et al.*, s.d.).

Em estudo sobre o potencial de isolados de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* em mudas de tomateiro em casa de vegetação, Lopes *et al.* (2008) concluíram que os isolados I-28 e I-30 reduziram o número de ovos do nematoide de 75,3 a 85,6 %, o que configura bons índices de controle.

O sucesso de todo programa de controle biológico está no isolamento e seleção de micro-organismos antagonistas em curto espaço de tempo e com baixo custo (MARIANO *et al.*, 2005). Ainda de acordo com Mariano *et al.* (2005), a seleção de micro-organismos antagonísticos deve ser baseada nas relações entre antagonista e patógeno em contato com o hospedeiro, inicialmente em condições controladas e posteriormente nas condições normais de ocorrência da doença. No caso de seleção de antagonistas para biocontrole de doenças

radiculares, os testes *in vivo* podem ser realizados em laboratório com plantas micropropagadas, casa de vegetação e campo, que constitui etapa fundamental e definitiva para seleção.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os micro-organismos *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* foram cedidos pelo Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides (BIOAGRO), do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

#### 3.1 Multiplicação dos microrganismos em laboratório

##### 3.1.1 Multiplicação de *Pasteuria penetrans*

Como nenhum método que permita a multiplicação *in vitro* de *P. penetrans* foi desenvolvido até o presente momento, sua produção ainda baseia-se no método descrito por Stirling & Wachtel (1980), no qual a bactéria cresce e multiplica-se no nematoide hospedeiro em plantas envasadas. Nesse método, J2 de *Meloidogyne* spp. com endósporos aderidos às suas cutículas são adicionados a vasos contendo uma planta de tomate cada, em casa de vegetação. Os sistemas radiculares são removidos após 7 a 8 semanas, secos ao ar, moídos e peneirados. O pó produzido serve como fonte de inóculo bacteriano (STIRLING e WACHTEL, 1980).

A concentração de endósporos no pó de raiz varia de acordo com a umidade, a temperatura, a textura e o teor de matéria orgânica do solo, assim como com o isolado de *P. penetrans*, a população do nematoide, a planta hospedeira, o número de nematoides por vaso e o número de endósporos por J2. Foram inoculados 2000 J2 de *M. javanica* contendo, uma média de 10 endósporos por J2 por planta de tomate e obteve-se  $6,25 \times 10^8$  endósporos por grama de raiz.

### 3.1.2 Produção e formulação de *Bacillus subtilis*

Células viáveis de *B. subtilis* foram cultivadas em meio 523 de KADO & HESKETT (1970) por um processo de fermentação utilizando 150 ml de meio de cultura em frascos de Erlenmeyer de 250 ml, até a esporulação ser concluída. Cada frasco foi inoculado com 1 ml de suspensão bacteriana de 24 h de vida da cultura de *B. subtilis* crescidas em meio 523 de KADO e HESKETT (1970) e incubadas a 26,5°C em agitador orbital a 150 r.p.m. por 5 dias. Esporos de *B. subtilis* foram obtidos pela centrifugação do caldo de cultura em 9.000 r.p.m., a 26°C por 15 minutos em tubos de plásticos estéreis. Os esporos obtidos foram lavados uma vez com solução salina tampão fosfato esterilizada (PBS pH 7.0) .

Unidades formadoras de colônia (UFCs) do crescimento bacteriano no estéril PBS foram determinadas através da densidade ótica (DO) da suspensão de esporos utilizando espectrofotômetro, ajustada para 1,3 (o que corresponde aproximadamente a  $5,5 \times 10^{10}$  UFC/ml) em absorvância de 600 nm de comprimento de onda. Para certificar que os esporos bacterianos foram realmente formados, realizou-se a técnica para coloração de esporos de Wirtz-Conklin.

A suspensão de esporos bacterianos foi adicionada à turfa esterilizada, na proporção de 40 ml da suspensão para cada 200 g do transportador. As formulações foram individualmente colocadas em bandejas de alumínio secas ao ar por 24 h, mexendo ocasionalmente, em câmara de fluxo laminar. As UFCs foram contadas para estimar o número de propágulos viáveis de *B. subtilis* utilizando o método padrão de diluição de placas. Três alíquotas de 1 g do pó seco da formulação foram colocadas individualmente em 99 ml de solução PBST estéril (PBS com 0.05% v/vl Tween 20) e agitadas magneticamente em alta velocidade durante 15 minutos. Diluições aproximadas das suspensões foram feitas e alíquotas de 0.2 ml plaqueadas em meio de cultura. O total das

populações bacterianas a ser obtida em 1 g de turfa foi expresso em UFC por grama de pó.

### **3.1.3 Produção de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia***

Sacos de polipropileno de 20 x 30 cm contendo 250g de arroz polido e 150 ml de água de torneira foram utilizados para a produção de *P. chlamydosporia*. Os sacos foram fechados enrolando-se a parte superior e grampeando-a com cinco grampos por cima da dobradura, ao longo da largura do saco. O substrato foi autoclavado e, após o resfriamento até a temperatura ambiente, foram colocados três discos de micélio (7 mm de diâmetro) de *P. chlamydosporia* isolado Pc-10, previamente cultivados no meio 'Corn Meal Agar' (CMA), com idade de uma semana, por saco, em câmara de fluxo laminar. Os sacos foram armazenados em sala de inubação a 26 C, no escuro, por 21 dias. A concentração de esporos foi estimada extraíndo-se os clamidósporos por meio de uma lavagem manual do substrato colonizado, num balde com água de torneira. A suspensão fúngica foi filtrada em camada dupla de gaze, e o número de clamidósporos foi quantificado com o auxílio de uma câmara de Newbauer e um microscópio óptico.

### **3.2 Ensaio de campo em área de cultivo comercial na cultura da bananeira em Janaúba - MG**

O experimento foi conduzido em duas áreas de cultivo comercial de bananeira Prata-Anã (*Musa* spp., grupo AAB), irrigadas por microaspersão, no município de Janaúba – MG, no período de março de 2009 a junho de 2010. Foi utilizado espaçamento duplo nas duas áreas, sendo na área 1 de 4x3x2 e na área 2 de 5x3x2. Inicialmente as áreas foram delimitadas, para que fossem feitas as marcações das linhas e das parcelas experimentais com o uso de estacas com

identificação dos tratamentos e das repetições. A distância entre parcelas experimentais foi de aproximadamente três metros. Cada parcela experimental constou de quatro famílias, onde foi marcada uma planta em cada família. Em cada uma das plantas marcadas foi realizada uma amostragem para a quantificação e identificação da população inicial de nematoides, tanto no solo quanto nas raízes. A amostragem consistiu na extração de solo com o uso de um trado holandês, na profundidade de 0 a 20 cm e 20 cm de distância de cada uma das quatro plantas que compuseram a parcela, obtendo quatro amostras simples e destas retirou-se uma amostra composta, cujo peso foi aproximadamente 500g. A amostragem das raízes se deu pela retirada das mesmas a aproximadamente 10 cm de distância do pseudocaule de cada uma das quatro plantas pertencentes à parcela, compondo uma amostra única. Tanto a amostragem de solo quanto de raízes foi feita no lado de dentro da rua, onde havia alcance do aspersor. Essas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e encaminhadas ao Laboratório de Nematologia/Fitopatologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG – Unidade Regional Norte de Minas, situada na Fazenda Experimental do Gortuba, município de Nova Porteirinha, onde foram mantidas sob refrigeração constante até a utilização.

Para a extração de nematoides do solo, foi utilizada a técnica do peneiramento, seguida de centrifugação em solução de sacarose (JENKINS, 1964). Os nematoides endoparasitas foram extraídos de raízes utilizando-se a mesma metodologia citada acima, mediante trituração de 20g raízes em liquidificador, de acordo com metodologia de Coolen & D’Herde (1972). Em seguida, os nematoides foram separados dos resíduos radiculares utilizando-se centrifugação, por duas vezes, sendo a última com solução de sacarose. Tanto para amostras do solo quanto para de raízes, realizou-se a quantificação e identificação em nível de gênero, em câmara de Peters (1 mL), sob microscópio ótico. Foram realizadas três contagens por amostra, obtendo-se a média final

entre as contagens. Ao final da contagem multiplicou-se a média do resultado obtido pelo volume líquido total obtido após de cada amostra para obter a densidade populacional em 50 cm<sup>3</sup> de solo e em 20 g de raízes.

Foram identificados e quantificados os nematoides *Meloidogyne* sp., *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multicinctus* e *Pratylenchus* sp. de acordo com a chave de Zuckerman *et al.* (1985). Imediatamente após a primeira amostragem, foi feita a aplicação dos tratamentos, que consistiram de:

- **T1:** *Pochonia chlamydosporia*
- **T2:** *Bacillus subtilis*
- **T3:** *Pasteuria penetrans*
- **T4:** *P. chlamydosporia* + *B. subtilis*
- **T5:** *P. chlamydosporia* + *P. penetrans*
- **T6:** *P. penetrans* + *B. subtilis*
- **T7:** *P. chlamydosporia* + *P. penetrans* + *B. subtilis*
- **T8:** Testemunha
- **T9:** Carbofuran (Furadan) 350 SC

Os tratamentos com micro-organismos foram aplicados ao redor das plantas selecionadas, em meia lua, na superfície do solo, que posteriormente foi coberto com restos vegetais ocorrentes na área, visando à proteção.

O fungo *P. chlamydosporia* foi aplicado na dosagem de 1 Kg de grãos de arroz colonizados, incubados com 20 discos de 2cm de diâmetro de BDA com micélio do fungo por 15 dias a 28°C, e contendo micélio, esporos e clamidósporos.

A bactéria *P. penetrans* foi aplicada na formulação pó de raiz de tomate, na dosagem de 6 g por planta e 4 x 10<sup>8</sup> esporos por grama de pó.

As rizobactérias *Bacillus subtilis* foram aplicadas na quantidade de 100g de turfa, em meia lua, ao redor de cada planta selecionada. Para os tratamentos compostos pela associação de dois ou dos três micro-organismos, houve a



mistura prévia dos mesmos em sacos plásticos, com a finalidade de homogeneizá-los para aplicação.

O tratamento testemunha não constou de aplicação, e o tratamento com o nematicida Carbofuran 350 SC (Furadan) foi aplicado com pulverizador costal manual, na quantidade de 400 ml/100 L de água. Foi feita uma única aplicação, no início do experimento, em março de 2009 e as amostragens seguintes, de solo e de raízes das bananeiras, ocorreram nos meses de julho (2009), novembro (2009) e março (2010). Essas amostragens ocorreram sempre nas mesmas plantas marcadas no início do experimento. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e encaminhadas ao Laboratório de Nematologia da EPAMIG – URENM, onde permaneceram sob refrigeração constante, para o posterior processamento, utilizando as mesmas técnicas de extração descritas anteriormente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo nove tratamentos e nove repetições, totalizando 81 parcelas experimentais em cada área. Em função de todas as variáveis serem classificadas como variáveis quantitativas discretas, resultantes de dados de contagens, procedeu-se à análise de covariância e posteriormente testou-se, através do procedimento GLM (General Linear Models), a aditividade, através da análise de covariância dos valores preditos ao quadrado; a normalidade, através do procedimento univariate, com a estatística W (Shapiro-Wilk), e a homogeneidade de variância pelo teste de BARTLETT. Uma vez confirmada a significância destes testes, indicando que a pressuposição de aditividade do resíduo, normalidade do resíduo e homogeneidade de variância não foram aceitas, as médias dos tratamentos foram submetidas à estatística não-paramétrica Kruskal-Wallis, por meio do procedimento Npar1Way e as médias foram comparadas pelo teste T do contraste, por meio do procedimento multitest, em nível de 10% de probabilidade.

Todos os tratos culturais foram executados de acordo com as recomendações para a cultura (PEREIRA *et al.*, 2007).

Os dados de precipitação, temperatura e umidade relativa, média mensal, foram fornecidos pela Estação Agroclimatológica da Unidade Regional EPAMIG Norte de Minas, situada na Fazenda Experimental do Gorutuba, no município de Nova Porteirinha (MG). Ao término de todas as coletas nas áreas experimentais, alíquotas de solo foram retiradas e foi avaliada a persistência do fungo *Pochonia chlamydosporia* no solo.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de covariância entre as médias das populações iniciais e das populações dos nematoides aos 120, 240 e 360 dias após a aplicação dos tratamentos (DAAT), nos diversos tratamentos, revelou que as populações iniciais estavam homogêneas o suficiente para não afetar os tratamentos.

As populações dos nematoides *Meloidogyne* sp., *Radopholus similis* e *Helicotylenchus* sp., em raízes de bananeiras em duas áreas de cultivo comercial na região de Janaúba, MG, estão descritas nas tabelas que se seguem. Populações de *Pratylenchus* sp. foram nulas em 83% das amostras e, portanto, não permitiram análise estatística.

As médias do número de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. por 20g de raízes, no experimento de campo da área 1 são apresentadas na Tabela 1. Aos 120 DAAT, nenhum dos nove tratamentos apresentou diferença estatística entre si. Entretanto, quando se compara as médias de cada tratamento aos 120 DAAT com as médias obtidas logo antes da aplicação dos tratamentos (0 DAAT), observa-se que, com exceção dos tratamentos *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*+*B. subtilis* e Furadan, todos apresentaram ação nematicida, resultando na redução das populações do nematoide das galhas. Aos 240 DAAT, os tratamentos *Pochonia chlamydosporia*, *P. penetrans*, *P. chlamydosporia* +*B. subtilis*, *P. penetrans* +*B. subtilis* e Furadan foram estatisticamente superiores aos tratamentos *B. subtilis*, *P. chlamydosporia* +*P. penetrans*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*+*B. subtilis* e testemunha. Aos 360 DAAT, os tratamentos *B. subtilis*, *P. chlamydosporia* +*B. subtilis*, *P. chlamydosporia* + *P. penetrans* +*B. subtilis* e Furadan diferiram estatisticamente da testemunha e apresentaram 100% de redução da população de nematoides quando comparados à população inicial.

**TABELA 1** – Média do número de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. por 20g de raízes de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG.

RAIZ	<i>Meloidogyne</i> sp.			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	650,9 A	35,8 aB	0,0 bB	37,3 abB
<i>Bacillus subtilis</i>	187,0 A	34,7 aB	34,7 abB	0,0 bB
<i>Pasteuria penetrans</i>	268,4 A	21,0 aB	0,0 bB	30,2 abB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	287,6 A	0,0 aB	0,0 bB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	569,4 A	0,0 aB	184,0 aAB	58,0 abB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	160,2 A	33,6 aB	0,0 bB	66,9 abAB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	47,6 A	9,8 aA	41,0 abA	0,0 bA
Testemunha	383,7 A	24,0 aB	77,8 abB	80,0 aB
Furadan	77,1 A	18,4 aA	16,3 bA	0,0 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

A atividade nematicida de micro-organismos antagônicos já foi estudada por muitos pesquisadores em todo o mundo, sobretudo em pesquisas em laboratórios e em casas de vegetação. Entretanto, trabalhos com culturas em campo ainda são escassos. De Leij e Kerry (1991) obtiveram mais de 80% de

redução da população do nematoide *M. arenaria* aplicando *P. chlamydosporia* em campo. Com a aplicação de *P. chlamydosporia* em couve, milho e feijão, Bourne e Kerry (1999) observaram 90% de parasitismo dos ovos expostos na rizosfera e reduções significativas de três espécies de nematoides das galhas, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. O potencial de *P. penetrans* em suprimir *M. arenaria* raça1 também foi testado em amendoim (*Arachis hypogaea*), durante um período de 2 anos em campo, por Chen *et al.* (1996). No primeiro ano, os índices de galhas e raízes com galhas foram significativamente reduzidos em 60% e 95% com 100.000 endósporos por grama de solo e 20% e 65% para 10.000 endósporos por grama de solo, respectivamente. No segundo ano, os índices de galhas nas raízes e vagens, respectivamente, foram significativamente reduzidos em 81% e 90% com 100.000 endósporos por grama de solo, e em 61% e 82% por 10.000 endósporos por grama de solo.

As médias do número de nematoides da espécie *R. similis* por 20 g de raízes de bananeira amostradas na área experimental 1 são apresentadas na Tabela 2. Aos 120 DAAT, o tratamento *Pochonia+Bacillus* resultou no menor número de nematoides quando comparado aos outros tratamentos, semelhante ao tratamento testemunha. Em relação à população inicial, todos apresentaram diminuição das populações de *R. similis*, exceto o tratamento *P. penetrans+B. subtilis*. Aos 240 DAAT, o tratamento *P. chlamydosporia+P. penetrans+B. subtilis* foi estatisticamente superior ao tratamento químico Furadan. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. Aos 360 DAAT, as plantas na presença de *P. chlamydosporia* apresentaram a menor média, com 695 J2 de *R. similis*, não diferindo estatisticamente dos tratamentos *B. subtilis* e *P. penetrans+B. subtilis*. Em relação à população inicial, os tratamentos *P. chlamydosporia*, *B. subtilis*, *P. penetrans*, *P. chlamydosporia+B. subtilis*, *P. chlamydosporia+P. penetrans*, + *P. chlamydosporia+P. penetrans+B. subtilis*, e a testemunha resultaram em diminuição das populações de *R. similis* de 65 a

72%, enquanto que o tratamento *P. penetrans*+*B. subtilis* não apresentou diferença. Nematoides de hábito migrador, como *R. similis*, constituem importantes patógenos de plantas, mas o efeito de antagonistas sobre esses nematoides tem sido pouco estudado (KRIZANOWSKI, 2006).

Existem similaridades dos resultados constantes nesse trabalho com o uso de *B. subtilis*, com os encontrados por Araújo e Menezes (2009), que investigaram o controle de doenças foliares em tomateiros através da indução de resistência. Esses autores utilizaram *B. subtilis* aplicado ao solo e nas folhas, como indutores de resistência bióticos e aplicação via foliar de acibenzolar-S-metil, e o fungicida químico Azoxystrobin, como indutores de resistência abióticos. O controle de doenças proporcionado por *B. subtilis* quando aplicado ao solo foi semelhante ao encontrado pela aplicação do fungicida químico nas folhas. Estes resultados sugerem que o controle das doenças foliares proporcionados pela inoculação do isolado na rizosfera pode ter sido fundamentado na resistência induzida.

**TABELA 2** - Média do número de nematoides do gênero *Radopholus similis* por 20g de raízes de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG.

RAIZ	<i>Radopholus similis</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	3264,6 A	666,9 bcB	1538,9 abAB	916,9 abB
<i>Bacillus subtilis</i>	4955,9 A	1759,6 aB	3121,0 abAB	1674,0 aB
<i>Pasteuria penetrans</i>	3156,8 A	1106,7 abcBC	2497,9 abAB	877,2 abC
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	2317,6 A	469,6 cB	1639,3 abAB	800,4 abB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	1365,0 AB	1185,2 abcB	2948,7 abA	695,6 bB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	1471,0 A	705,3 bcA	1443,3 abA	1713,7 aA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	3813,0 A	1456,8 abB	858,4 bB	1240,9 abB
Testemunha	1035,3 AB	365,2 cB	1864,2 abA	829,9 abB
Furadan	1824,3 AB	672,7 bcB	3872,0 aA	1295,9 abAB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

**TABELA 3** - Média do número de nematoides do gênero *Helicotylenchus multincinctus* por 20 g raízes de bananeiras, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG.

RAIZ	<i>Helicotylenchus multincinctus</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	643,6 AB	473,8 aB	1083,0 abA	882,2 aAB
<i>Bacillus subtilis</i>	686,0 B	526,9 aB	1451,5 abA	738,2 aAB
<i>Pasteuria penetrans</i>	1426,7 A	663,9 aA	1311,5 abA	503,0 aA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	702,1 A	438,0 aA	790,1 bA	794,1 aA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	2565,4 A	362,3 aC	1804,9 aAB	753,3 aBC
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	1760,2 A	517,0 aB	1463,9 abA	606,1 aB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	1487,6 A	469,9 aB	1039,9 abAB	597,9 aAB
Testemunha	9207,8 A	447,7 aB	1156,4 abB	466,0 aB
Furadan	1895,6 A	512,4 aB	1012,3 abB	622,4 aB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

Os níveis populacionais do nematoide *H. multincinctus* na área 1 durante os 360 dias do experimento estão relacionados na Tabela 3. Aos 120 DAAT, os



tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si. Entretanto todos, com exceção dos tratamentos com *P. penetrans* e *P. chlamydosporia+B. subtilis* reduziram as populações do nematoide quando comparadas às respectivas populações iniciais. Aos 240 DAAT, o tratamento *P. chlamydosporia+B. subtilis* apresentou menor média, sendo estatisticamente superior ao tratamento *P. chlamydosporia+P. penetrans*. Apenas os tratamentos testemunha e o químico Furadan apresentaram redução de suas populações, em relação à população inicial. Aos 360 DAAT, os nove tratamentos não diferiram entre si estatisticamente, entretanto, quando comparados com suas respectivas populações iniciais, os tratamentos *P. chlamydosporia+P. penetrans*, *P. penetrans+B. subtilis*, Testemunha e Furadan mostraram-se diferente estatisticamente, comparando-os às populações iniciais, com reduções de 71, 66, 95 e 67% o número de indivíduos nas raízes de bananeira, respectivamente. Sayre e Star (1988) concluíram que *Meloidogyne* spp. é hospedeiro de *P. penetrans*. Stirling (1985) especulou que a preferência hospedeira de *P. penetrans* pode estar relacionada com as populações de nematoides, ao invés de espécies. De acordo com Freitas e Carneiro (2000), endósporos de *Pasteuria* retirados de uma espécie de nematoide podem se aderir e multiplicar em outra espécie ou mesmo em outro gênero de nematoide. Resultados obtidos nessa pesquisa confirmam tal informação, constatando ter havido redução da população de *H. multicinctus* pelos micro-organismos antagonistas usados, sobretudo *P. penetrans*.

No experimento montado na área 2, os tratamentos apresentaram níveis similares de população de *Meloidogyne* sp. em raízes de bananeiras, como pode ser observado na Tabela 4. Aos 120 DAAT, os tratamentos *B. subtilis* e *P. penetrans* e a Testemunha apresentaram as menores médias de populações. Quando são comparados às populações iniciais, os tratamentos *B. subtilis*, *P. penetrans*, *P. chlamydosporia+P. penetrans*, *P. chlamydosporia+P.*

*penetrans*+*B. subtilis* e a Testemunha diferiram estatisticamente. Aos 240 DAAT, os tratamentos *P. chlamydosporia*, *B. subtilis*, *P. penetrans*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*+*B. subtilis*, Testemunha e Furadan se mostraram estatisticamente iguais, diferindo apenas do tratamento *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*. Estes mesmos tratamentos citados, mais o tratamento *P. penetrans*+*B. subtilis* apresentaram redução das populações de *Meloidogyne* em relação às populações iniciais. Aos 360 DAAT, os tratamentos foram iguais estatisticamente e apenas o tratamento *P. chlamydosporia*+*B. subtilis* não apresentou efeito nematicida em relação à população inicial. A compatibilidade entre os agentes de controle biológico é importante quando se deseja aplicar simultaneamente dois ou mais antagonistas no solo para potencializar o controle de nematoides (DALLEMOLE-GIARETTA *et al.*, 2010). Esses autores avaliaram a ação isolada e combinada do fungo *P. chlamydosporia*, da rizobactéria *Bacillus cereus* e da fibra de coco no controle de *M. javanica* em casa de vegetação, concluindo que a combinação dos dois agentes de controle biológico reduziu o número de galhas de *M. javanica*, diferindo da testemunha inoculada apenas com o nematoide. Em relação à matéria orgânica, sua adição à cobertura do solo reduz o efeito deletério da incidência direta dos raios solares sobre os fungos e, aliada à irrigação, contribuem para melhorar o desempenho dos agentes de controle biológico. Em áreas de cultivo comercial de bananeiras, 66% da matéria seca oriunda da colheita é devolvida ao solo, correspondendo a uma média de 9,6 toneladas de massa vegetal seca por hectare (BORGES *et al.*, 2006).

**TABELA 4** - Número médio de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. por 20 g de raízes de bananeiras, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região de Janaúba – MG.

RAIZ	<i>Meloidogyne</i> sp.			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	75,3 A	58,3 abAB	27,6 bAB	6,2 aB
<i>Bacillus subtilis</i>	382,3 A	16,0 bB	23,3 bB	54,4 aB
<i>Pasteuria penetrans</i>	1071,9 A	27,0 bB	38,3 bB	10,7 aB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	188,9 A	114,6 abA	103,1 abA	54,0 aA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	258,8 A	52,7 abB	122,8 aAB	36,2 aB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	263,1 A	154,0 aAB	60,7 abB	63,0 aB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	497,7 A	47,8 abB	22,2 bB	36,4 aB
Testemunha	734,5 A	33,1 bB	38,7 bB	0,0 aB
Furadan	419,3 A	127,6 abAB	37,6 bB	13,6 aB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

As médias das populações de *Radopholus similis*, em raízes de bananeira, estão descritas na Tabela 5. Aos 120 DAAT, os tratamentos *P. chlamydosporia*+*B. subtilis*, testemunha e Furadan apresentaram menores médias, apesar de ter diferido apenas do tratamento *P. penetrans*. Já em relação às suas populações iniciais, mostraram-se superiores estatisticamente, os tratamentos *B. subtilis*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*, *P. penetrans*+*B. subtilis* e testemunha. Aos 240 DAAT, não houve diferença no comportamento dos tratamentos em relação às populações de *R. similis*, e apenas os tratamentos *B. subtilis* e testemunha se diferenciaram estatisticamente das populações iniciais. Aos 360 DAAT o tratamento *P. chlamydosporia*+*P. penetrans* promoveu uma redução significativa no número de nematoides em comparação aos demais tratamentos. Em relação à população inicial, os tratamentos *B. subtilis*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans* e a testemunha também promoveram queda na população destes nematoides em campo, apresentando diferença estatística. Os demais tratamentos não apresentaram controle significativo. Nas avaliações de persistência de *P. chlamydosporia*, nas duas áreas estudadas, houve ocorrência do fungo em todas as parcelas experimentais, incluindo aquelas nas quais não houve sua aplicação, sugerindo ter havido sua dispersão. Essa hipótese explica a redução da população de *R. similis* ocorrida em muitas parcelas, sobretudo no tratamento testemunha. Ferraz *et al.* (2010) relatam que fungos nematófagos têm maior facilidade de estabelecimento no solo do que fungos predadores. Além disso, sua dispersão é facilitada por tratos culturais e trânsito de pessoas e máquinas na área. A presença de matéria orgânica também favorece a germinação dos clamidósporos (estruturas de resistência) e o estabelecimento do fungo no solo.

**TABELA 5** - Número médio de *Radopholus similis* por 20 g de raízes de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região de Janaúba – MG.

RAIZ	<i>Radopholus similis</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	278,4 AB	28,8 abB	738,0 aA	195,6 abAB
<i>Bacillus subtilis</i>	1805,6 A	35,3 abB	247,4 aB	219,1 abB
<i>Pasteuria penetrans</i>	186,6 A	167,6 aA	608,4 aA	309,1 abA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	630,7 A	5,4 bA	255,8 aA	84,4 abA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	576,6 A	60,8 abB	392,3 aAB	47,3 bB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	32,7 B	127,8 abB	882,9 aA	348,7 aAB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	220,3 A	24,3 abA	145,1 aA	205,7 abA
Testemunha	2840,8 A	0,0 bB	314,7 aB	147,1 abB
Furadan	769,8 A	21,3 bA	627,8 aA	93,6 abA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

Como pode ser observado na Tabela 6, aos 120 DAAT não houve diferença significativa entre os tratamentos usados no controle de *H. multicinctus* em raízes de bananeiras. Entretanto, em todos os tratamentos houve diminuição de suas populações quando comparados à população inicial. Aos 240 DAAT apenas o tratamento com Furadan apresentou controle, quando comparado aos demais. Ao final das avaliações (360 DAAT), todos os tratamentos apresentaram redução em suas populações, com diferenças estatísticas entre elas. Apesar de seu hábito parasitário, do tipo ectoparasita migrador, as populações de *H. multicinctus* em raízes se apresentaram altas. Segundo Tihohod (1997), esses nematoides apresentam tal hábito parasitário, mas podem ser descobertos no tecido cortical da raiz. *Pochonia chlamydosporia* é um fungo que atua predando juvenis ou adultos que estão se locomovendo no solo à procura de raízes. Possivelmente o maior número de nematoides no solo, a procura das raízes, favoreceu o parasitismo e a conseqüente redução da população. O mesmo pode ter ocorrido com *P. penetrans*, pois a maior movimentação dos juvenis e adultos no solo à procura de raízes aumentou a possibilidade de contato entre eles e os endósporos móveis da bactéria. Chen e Dickson (1998) relataram uma pesquisa de campo realizada em Porto Rico, por Vargas e Acosta (1990), na qual tanto *Pratylenchus* spp. quanto *Meloidogyne* spp. foram parasitados por *Pasteuria* spp. Entretanto não houve nenhuma evidência de que a mesma espécie de *Pasteuria* spp. encontrada parasitando *Pratylenchus* sp. também parasitou *Meloidogyne* spp. ou vice-versa. Da mesma forma, juvenis e adultos de *Aphelenchoides* sp., *Helicotylenchus* sp. e *Pratylenchus* sp. foram encontrados com endósporos de *Pasteuria* aderidos, em uma área experimental que tinha sido anteriormente infestadas com endósporos da bactéria (CHEN e DICKSON, 1998). Os resultados corroboram com os dessa pesquisa, em que *P. penetrans* foi encontrada parasitando nematoides da espécie *H. multicinctus*.

**TABELA 6** - Número médio de *Helicotylenchus multicinctus* por 20 g de raízes de bananeiras, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região de Janaúba – MG.

RAIZ	<i>Helicotylenchus multicinctus</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	9303,1 A	2334,6 aB	3421,2 aB	1612,6 abcB
<i>Bacillus subtilis</i>	8400,6 A	3029,9 aBC	3718,4 aB	1471,9 bcC
<i>Pasteuria penetrans</i>	10728,0 A	2929,3 aB	4034,0 aB	1454,7 bcB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	11314,3 A	2898,1 aB	3279,2 aB	913,4 cB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	12713,2 A	2063,1 aB	2480,3 aB	1405,3 bcB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	11295,6 A	2290,6 aB	2139,3 aB	2163,6 abB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	10758,8 A	2216,1 aB	3316,0 aB	2359,9 aB
Testemunha	4247,6 A	1845,8 aBC	3050,2 aAB	736,8 cC
Furadan	8977,8 A	2522,7 aB	1652,3 bB	1011,1 cB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

Apesar de as populações de *Meloidogyne* sp. se encontrarem baixas (Tabela 7), provavelmente devido à seu hábito parasítico (endoparasitas sedentários), ao longo das avaliações ocorreu redução das mesmas, onde, na maioria dos tratamentos, nenhum indivíduo deste gênero foi encontrado. Aos

120 DAAT, os tratamentos *P. chlamydosporia*, *P. penetrans*, *P. chlamydosporia+B. subtilis*, *P. penetrans+B. subtilis*, *P. chlamydosporia+P. penetrans+B. subtilis*, Testemunha e Furadan foram diferentes estatisticamente, quando comparados aos demais tratamentos. Aos 240 DAAT, não houve diferença estatística entre os tratamentos, mas em comparação às suas populações iniciais, os tratamentos *P. penetrans*, *P. chlamydosporia+B. subtilis*, *P. penetrans+B. subtilis*, *P. chlamydosporia+P. penetrans+B. subtilis* e a testemunha foram estatisticamente superiores. Aos 360 DAAT, todos os tratamentos, exceto *P. chlamydosporia+P. penetrans*, diferiram estatisticamente dos demais. Como foi citado anteriormente, os micro-organismos aplicados ao solo dependem do encontro com os juvenis, bem como com ovos e fêmeas que ainda não começaram a deposição dos ovos. Verdejo-Lucas *et al.* (2003) relataram o isolamento de *P. chlamydosporia* de ovos parasitados em raízes de tomateiro aos oito e nove meses após a aplicação do fungo, indicando que o mesmo sobreviveu durante a rotação de culturas entre tomate e alface, foi patogênico a *M. javanica*, e se mostrou compatível com as práticas agrônômicas e ambientais, sob condições de agricultura intensiva em casa de vegetação.



**TABELA 7** – Número médio de nematoides do gênero *Meloidogyne* sp. em 50cc de solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG.

SOLO	<i>Meloidogyne</i> sp.			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	22,1 A	0,0 bB	10,8 aAB	0,0 bB
<i>Bacillus subtilis</i>	15,0 A	9,0 abA	0,0 aA	0,0 bA
<i>Pasteuria penetrans</i>	50,0 A	0,0 bB	0,0 aB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	44,3 A	4,8 bB	0,0 aB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	8,9 A	17,4 aA	10,4 aA	6,0 abA
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	55,3 A	0,0 bB	0,0 aB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	36,2 A	0,0 bB	0,0 aB	0,0 bB
Testemunha	402,0 A	0,0 bB	9,1 aB	0,0 bB
Furadan	0,0 A	0,0 bA	0,0 aA	9,8 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

**TABELA 8** - Número médio de nematoides *Radopholus similis* em 50cc de solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG.

SOLO	<i>Radopholus similis</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	321,3 A	22,0 abB	12,0 bB	0,0 bB
<i>Bacillus subtilis</i>	112,6 A	4,1 abC	21,8 bBC	72,7 abAB
<i>Pasteuria penetrans</i>	75,3 A	6,9 abA	0,0 bA	103,1 aA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	124,3 A	16,3 abB	55,9 abB	6,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	85,2 A	16,2 abA	12,4 bA	13,6 bA
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	86,4 A	0,0 bA	92,4 aA	0,0 bA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	317,4 A	26,3 abB	8,7 bB	13,7 bB
Testemunha	37,2 A	21,7 abA	27,3 abA	19,6 bA
Furadan	40,9 A	10,4 abB	11,8 bB	10,8 bB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

Todos os tratamentos tiveram suas populações reduzidas ou estabilizadas ao longo das avaliações (Tabela 8). Aos 120 DAAT, o tratamento *P. penetrans*+*B. subtilis* apresentou a menor média de população, não diferindo dos tratamentos *P. chlamydosporia*, *B. subtilis*, *P. penetrans*, *P. chlamydosporia*+*B. subtilis*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*, testemunha e

Furadan. Já aos 240 DAAT, o tratamento *P. penetrans*+*B. subtilis* teve maior média, não apresentando diferença estatística somente em relação à testemunha. Em relação às populações iniciais, os tratamentos *P. chlamydosporia*, *B. subtilis*, *P. chlamydosporia*+*B. subtilis*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*+*B. subtilis* e Furadan apresentaram redução. Aos 360 DAAT, os tratamentos *P. chlamydosporia*, *P. chlamydosporia*+*B. subtilis*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*+*B. subtilis* e o químico Furadan apresentaram redução de suas populações, quando comparadas às populações iniciais. A testemunha apresentou 41% de redução da população.

A eficácia de micro-organismos antagonistas a diversos gêneros de fitonematoides, usados isoladamente ou em conjunto, é relatada por muitos autores (DABIRÉ *et al.*, 2007; FABRY *et al.*, 2007; MACIÁ-VICENTE *et al.*, 2008; ROBERTS *et al.*, 2005; SIDDIQUI e SHAUKAT, 2003; TIAN *et al.*, 2000). O controle de *M. javanica* por *P. chlamydosporia* também foi relatado por Dallemole-Giaretta *et al.* (2008) em que a aplicação do antagonista ao solo reduziu em 82 % o número de ovos e em 50 % o número de galhas por sistema radicular. Resultados semelhantes foram observados por Sharma e Vivaldi (1999) que relataram que o controle do nematoide por *P. penetrans* quando adicionado ao solo  $1,0 \times 10^6$ ,  $5,0 \times 10^6$  e  $1,0 \times 10^7$  endósporos/kg de solo foi de 94,7%, 99,7% e 100%, respectivamente. Esses autores concluíram, ao final da pesquisa, que *P. penetrans* mostrou-se altamente eficiente no controle de *M. javanica*, mesmo no nível mais baixo de inóculo ( $10 \times 10^5$  endósporos/kg de solo).

**TABELA 9** - Número médio de nematoides *Helicotylenchus multicinctus* em 50 cc de solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 1, na região de Janaúba – MG.

SOLO	<i>Helicotylenchus multicinctus</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	149,7 A	133,7 abA	133,1 abA	52,7 bA
<i>Bacillus subtilis</i>	176,9 A	47,6 bA	316,1 aA	66,1 abA
<i>Pasteuria penetrans</i>	303,8 A	70,7 bB	123,7 abB	171,9 aB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	204,0 A	127,6 abA	136,7 abA	98,3 abA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	256,9 A	100,0 abB	125,6 abB	76,0 abB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	363,4 A	96,1 abB	98,0 abB	173,1 aB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	252,8 A	177,8 abAB	111,9 abB	102,0 abB
Testemunha	1491,3 A	137,3 abB	89,3 abB	144,3 abB
Furadan	100,6 AB	184,8 aA	66,4 bB	155,1 aAB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

O comportamento da população de *H. multicinctus* na presença dos diferentes antagonistas pode ser observado na Tabela 9. Comparando-se os tratamentos, aos 120 DAAT o tratamento *B. subtilis* e *P. penetrans* foram superiores ao tratamento Furadan, este com maior média. Os demais tratamentos

apresentaram similaridade entre si. Comparando-os às populações iniciais, os tratamentos *P. penetrans*, *P.chlamydosporia+P. penetrans*, *P. penetrans+B. subtilis* e a testemunha apresentaram redução das populações. Aos 240 DAAT, o tratamento químico Furadan foi superior apenas ao tratamento *B. subtilis*. Os tratamentos *P. penetrans*, *P. chlamydosporia+P. penetrans*, *P. penetrans+B. subtilis*, *P. chlamydosporia+P. penetrans+B. subtilis*, a testemunha e Furadan tiveram suas populações reduzidas. Ao final das avaliações (360 DAAT), o tratamento *P. chlamydosporia* apresentou redução da população quando comparado aos tratamentos com aplicação de *P. penetrans* isoladamente e *P. penetrans+B. subtilis*, e do tratamento com aplicação de Furadan.

**TABELA 10** - Número médio de nematoides *Meloidogyne* sp. em 50cc solo em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2, na região e Janaúba – MG.

SOLO	<i>Meloidogyne</i> sp.			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	212,1 A	19,0 abB	10,9 abB	0,0 bB
<i>Bacillus subtilis</i>	175,7 A	17,8 abB	0,0 bB	0,0 bB
<i>Pasteuria penetrans</i>	214,2 A	18,9 abB	9,6 abB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	157,1 A	29,3 aB	0,0 bB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	81,1 A	0,0 bB	0,0 bB	0,0 bB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	201,1 A	9,6 abB	0,0 bB	0,0 bB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	95,6 A	0,0 bB	0,0 bB	0,0 bB
Testemunha	38,0 A	0,0 bA	0,0 bA	18,9 abA
Furadan	130,0 A	9,8 abB	20,4 aB	24,9 aB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

As populações de *Meloidogyne* sp. em amostras de solo da área 2 decresceram aos 360 DAAT em 100% em todos os tratamentos com micro-organismos antagonistas e 81% para o tratamento com controle químico Furadan, todos diferindo estatisticamente da testemunha. Entre tratamentos, houve diferença estatística entre todos os tratamentos com micro-organismos

antagonistas e o controle químico Furadan, segundo as médias de tratamentos da Tabela 10. Segundo Verdejo-Lucas *et al.* (2003), a combinação de vários métodos pode aumentar os níveis de controle. Nesse experimento, os autores constataram que a combinação de *P. chlamydosporia* com o nematicida Oxamil, resultou na diminuição do número de ovos e galhas de *M. javanica*, em plantas de tomate, em casa de vegetação. Entretanto, no presente experimento, os resultados obtidos mostram o sucesso no uso isolado e em combinação entre os micro-organismos antagonistas, evidenciando assim, a não utilização de produtos químicos. Estas associações têm potencial para colonização mais ampla da rizosfera, e expressam as características benéficas sob uma ampla gama de condições de solo e antagonismo a um maior número de patógenos do que se fossem aplicados individualmente (MEYER e ROBERTS, 2002).

**TABELA 11** - Número médio de *Radopholus similis* em 50 cc de solo de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetido a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2 na região e Janaúba – MG.

SOLO	<i>Radopholus similis</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	10,7 AB	0,0 bB	22,9 abA	4,1 cAB
<i>Bacillus subtilis</i>	108,7 A	13,0 abA	74,7 aA	0,0 cA
<i>Pasteuria penetrans</i>	28,9 A	4,6 bB	9,3 bAB	0,0 cB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	9,8 A	0,0 bA	0,0 bA	0,0 cA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	0,0 B	0,0 bB	0,0 bB	27,2 bA
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	0,0 A	4,9 bA	0,0 bA	0,0 cA
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	0,0 B	0,0 bB	0,0 bB	46,4 abA
Testemunha	120,1 A	39,0 aB	0,0 bB	10,7 bcB
Furadan	21,8 AB	0,0 bB	0,0 bB	51,1 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

Aos 120 DAAT o número de nematoides da espécie *Radopholus similis* foi observado na Tabela 11. Com exceção dos tratamentos testemunha e *B. subtilis*, todos apresentaram efeito estatisticamente igual ao tratamento Furadan. Aos 240 DAAT, todos os tratamentos, exceto *P. chlamydosporia*, diferiram



estatisticamente do tratamento *B. subtilis*. Em relação às populações iniciais, apenas os tratamentos *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*, *P. chlamydosporia*+*P. penetrans*+*B. subtilis*, a testemunha e o tratamento químico Furadan tiveram suas populações reduzidas.

**TABELA 12** - Número médio de *Helicotylenchus multicinctus* em 50 cc de solo de bananeira, em quatro épocas de avaliações, submetidos a nove tratamentos, em área de cultivo comercial 2 na região de Janaúba – MG.

SOLO	<i>Helicotylenchus multicinctus</i>			
	0 DAAT	120 DAAT	240 DAAT	360 DAAT
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	1758,8 A	119,1 bcB	129,1 aB	214,4 abB
<i>Bacillus subtilis</i>	1334,0 A	153,7 bcB	182,2 aB	131,6 bB
<i>Pasteuria penetrans</i>	1758,1 A	208,1 bB	163,3 aB	189,8 abB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	1498,6 A	81,6 cB	228,7 aB	306,0 aB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	1558,8 A	159,1 bB	175,1 aB	270,0 aB
<i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	1332,2 A	208,0 bB	173,8 aB	166,4 abB
<i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	1026,2 A	138,0 bcB	151,8 aB	245,4 abB
Testemunha	280,7 A	106,3 bcA	170,8 aA	194,5 abA
Furadan	604,9 A	332,0 aB	233,6 aB	127,8 bB

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si ( $p>0,1$ ) pelo teste de Kruskal-Wallis em nível de 10% de probabilidade.

As médias populacionais do nematoide *H. multicinctus* estão representadas na Tabela 12. Aos 120 DAAT o maior valor foi atribuído ao tratamento químico Furadan, diferindo dos demais tratamentos. A menor média foi do tratamento *P. chlamydosporia*+*B. subtilis*, com 81,6 nematoides. Todos os tratamentos apresentaram diferença estatística em relação à população inicial, exceto a testemunha. Aos 240 DAAT, os tratamentos não apresentaram diferença entre si. Contudo, com exceção da testemunha, todos apresentaram redução de suas populações. Aos 360 DAAT todos os tratamentos, com exceção da testemunha, apresentaram reduções nas populações de nematoides, as quais variaram entre 76 e 90%.

Os resultados do teste de persistência no solo do fungo *P. chlamydosporia*, em Unidades Formadoras de Colônia (UFC), estão descritos na tabela abaixo:

**TABELA 13** – Número de unidades formadoras de colônias (UFC) do fungo *Pochonia chlamydosporia*, em amostras de solo retiradas das parcelas submetidas a nove tratamentos, nas duas áreas experimentais, na região e Janaúba, MG.

Tratamentos	UFC	
	Área 1	Área 2
T1 - <i>Pochonia chlamydosporia</i>	500	0
T2 – <i>Bacillus subtilis</i>	200	0
T3 - <i>Pasteuria penetrans</i>	1100	100
T4 - <i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	400	400
T5 - <i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i>	400	0
T6 - <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	200	0
T7 - <i>Pochonia chlamydosporia</i> + <i>Pasteuria penetrans</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	300	300
T8 – Testemunha	600	100
T9 - Furadan	1500	100

*Pochonia chlamydosporia* é um fungo que apresenta capacidade de produzir grande quantidade de clamidósporos, o que facilita o seu estabelecimento no solo, mesmo quando este apresenta baixas populações de nematoides. Após a aplicação, sua dispersão é facilitada através do trânsito de funcionários na área, o que ocorre comumente devido ao manejo aplicado à cultura e à colheita dos frutos. Na área 1 houve um estabelecimento maior do fungo. Sua ocorrência foi detectada em todas as parcelas experimentais, sobretudo nas quais não havia sido aplicado, e em concentrações maiores, como nos tratamentos *P. penetrans*, testemunha e Furadan, com 1100, 600 e 1500 UFC, respectivamente. Já nos tratamentos *B. subtilis* e *P.penetans+B. subtilis*, a ocorrência foi de 200 UFC. Por outro lado, na área 2 o fungo não foi encontrado em todas as parcelas experimentais. Em parcelas relativas aos tratamentos com *Pochonia chlamydosporia*, *B. subtilis*, *P. chlamydosporia+P. penetrans* e *P. penetrans+B. subtilis* não houve ocorrência de UFC do fungo. Já nos tratamentos *P.chlamydosporia+B. subtilis*, *P. chlamydosporia+P. penetrans+B.subtilis*, testemunha e Furadan, foram encontradas 100, 400, 300, 100 e 100 UFC, respectivamente. A não ocorrência do fungo em parcelas onde houve sua aplicação pode ter explicação na amostragem realizada, que não foi demonstrativa o suficiente para detectar a presença do microrganismo.

**TABELA 14** – Composição química e física do solo das duas áreas experimentais.

	Composição química		Composição física		
	pH	MO	Areia	Silte	Argila
		Dag/kg		dag/kg	
Área 1	6,0	2,4	1	49	50
Área 2	6,3	1,3	1	30	69

A natureza dinâmica dos nematoides em lavouras dificulta a investigação dos mesmos. O sistema ecológico em que vivem os fitonematoides é uma complexa interação entre a planta hospedeira, o microclima, as propriedades físicas e químicas do solo e os micro-organismos (LAUGGHLIN E LORDELLO, 1977). Ribeiro *et al.* (2009) enfatizam serem estes os motivos das flutuações populacionais dos fitonematoides no tempo e nas direções vertical e horizontal e que, o fato de a bananeira ser uma cultura perene, está sujeita, durante todo ano, ao efeito do ambiente. Outro fator relevante é que, segundo Gowen e Quénéhervé (1990), o parasitismo no sistema radicular da banana é um tanto diferente, quando comparada com outras plantas perenes, devido ao hábito de crescimento das mesmas, onde uma sucessão de novas raízes, revitalizadas, e de curta vida são produzidas. A combinação de solo pobre e o problema com nematoides podem resultar em nematoides e raízes concentradas na camada mais alta do solo e um dano mais severo causado pelo nematoide.

A composição química do solo da área 1 e 2 demonstra que a textura destes solos é argilosa e muito argilosa, respectivamente. Espécies de nematoides são afetadas de forma diferente por diferentes tipos de solos. Koenning *et al.* (1996) comparou o efeito de diferentes tipos de solo sobre populações iniciais de *M. incognita* e *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro, bem como a reprodução e os danos causados. A reprodução de *M. incognita* foi

maior em solos de textura arenosa do que naqueles de textura argilosa. Entretanto, a população de *R. reniformis* foi favorecida por níveis elevados de argila e silte. Ainda segundo esses autores, graves infestações do nematoide das galhas tendem a ocorrer em solos arenosos, como os encontrados na planície costeira do sudeste Estados Unidos. Ainda assim, este nematoide é adaptado a uma grande variedade de texturas de solo.

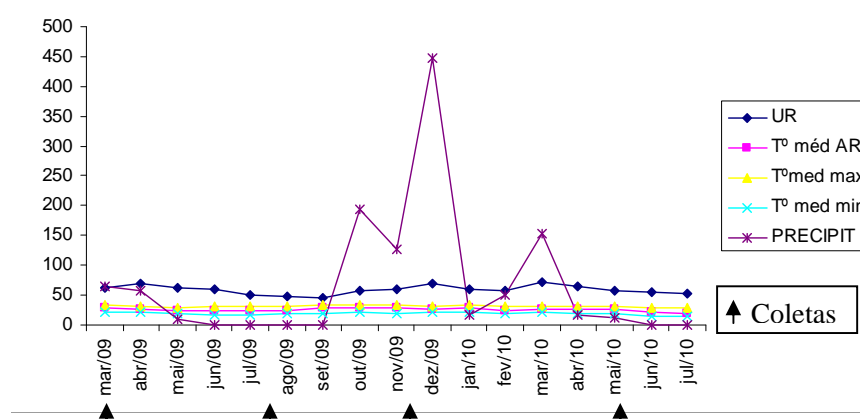
A umidade do solo, a umidade relativa e os fatores ambientais afetam diretamente a sobrevivência dos nematoides. Os nematoides possuem variadas formas de adaptação a mudanças que ocorrem no ambiente causadas por diversos fatores, entre os quais o manejo dos cultivos, estresse climático, época de plantio, fisiologia das plantas e melhoramento genético (BLAKELY *et al.* 2002).

O ambiente de um bananal proporciona ótimas condições de umidade, temperatura do solo e fornecimento de nutrientes para o desenvolvimento de fungos, bactérias e outros micro-organismos, em consequência da manutenção de restos culturais na forma de cobertura morta. Estima-se que a quantidade de matéria orgânica depositada em um bananal de 'Prata-Anã' esteja entre 180 a 200 t/ha<sup>-1</sup>.ano (RODRIGUES *et al.*, 2001), sendo que esse volume tende a permanecer constante durante o período de cultivo, pois à medida que ocorre a decomposição, novos restos culturais são adicionados ao sistema.

Por outro lado, a presença de resíduos na superfície dos solos pode afetar indiretamente a estrutura da comunidade de nematoides por promover maior densidade de raízes, maior concentração de matéria orgânica, exsudados radiculares, favorecendo grupos de nematoides oportunistas, que se beneficiam e respondem de maneira rápida pela oferta de alimento (BORGES *et al.*, 2003). Portanto, com o aumento da temperatura, a atividade microbiana em sistema rico em matéria orgânica responde de forma diferente aos ambientes com menor teor

de matéria orgânica e temperaturas elevadas (RITZINGER; FANCELLI, 2006 a).

No decorrer do experimento (março/2009 a julho/2010), a precipitação média foi de 67,5 mm. Quanto à temperatura, a média do ar foi de 25°C, a média das mínimas e das máximas foram 19,0°C e 31,4°C, respectivamente.



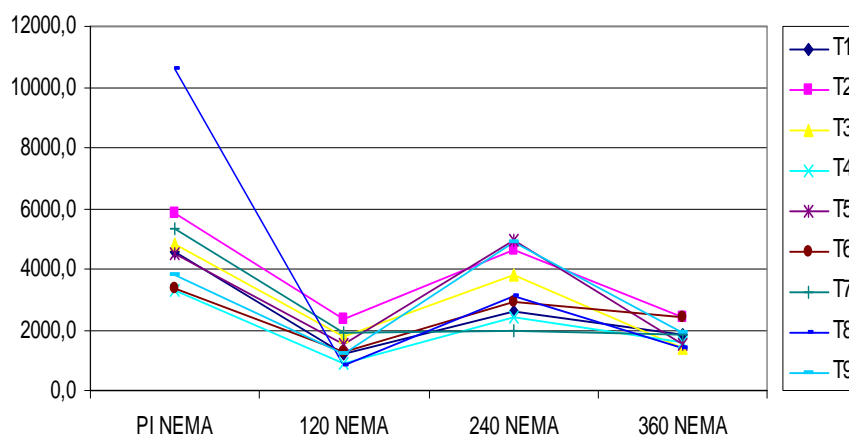
**FIGURA 1-** Médias de temperaturas mínimas, médias e máximas do ar, umidade relativa do ar e precipitação em Janaúba, MG, no período de condução dos dois experimentos de campo de março/2009 a julho/2010.

Para *P. penetrans*, a adesão de endósporos e o seu desenvolvimento em *Meloidogyne* sp. ocorrem de forma mais eficiente em temperaturas entre 25 e 30°C (FREITAS, 1997 citado por FREITAS *et al.* 2009a). Ainda segundo esse autor, altas temperaturas, culturas que toleram alta reprodução do nematoide, água em abundância e alta capacidade de disseminação da bactéria são fatores que favorecem sua multiplicação e elevação da densidade no solo. Condições de solo com bons teores de matéria orgânica e que não atinjam temperaturas tão altas quanto às ideais para *P. penetrans*, são mais adequadas para o desenvolvimento e atividade nematófaga de *P. chlamydosporia*. Além do mais,

este microrganismo tem a vantagem de não ser dependente do nível populacional dos nematoides, como ocorre com *P. penetrans*, tendo, portanto, boa eficiência em populações mais baixas de nematoides. Outro fator relevante é que *P. penetrans* e *P. chlamydosporia* têm modos de ação complementares, sendo que o fungo parasita fêmeas e ovos e a bactéria age sobre juvenis de nematoides. Os dados climáticos apresentados nessa pesquisa, aliados ao ambiente do bananal, com irrigação constante e teores de matéria orgânica de 2,4 e 1,3 dag/kg, para as áreas 1 e 2 respectivamente, mostram que as condições ambientais foram adequadas aos micro-organismos antagonistas, propiciando o controle dos fitonematoídeos. De acordo com Dabiré e Mateille (2004), a textura do solo e irrigação também influenciam o transporte e o desenvolvimento de *P. penetrans*. Esses autores estudaram o transporte dos esporos de *P. penetrans* em três solos de textura contrastada (arenoso, areno-argiloso e argiloso). Cinquenta e três por cento dos esporos inoculados foram lixiviadas pelo fluxo de água no solo arenoso, mas apenas 14% nos solos areno-argilosos e 0,1%, no solo argiloso. Juvenis de *M. javanica* foram mais infectadas por *P. penetrans* nos solos areno-argilosos do que em solo arenoso.

Os gráficos que se seguem representam as médias dos tratamentos utilizados nas duas áreas experimentais de cultivo de bananeira, na região de Janaúba, MG.

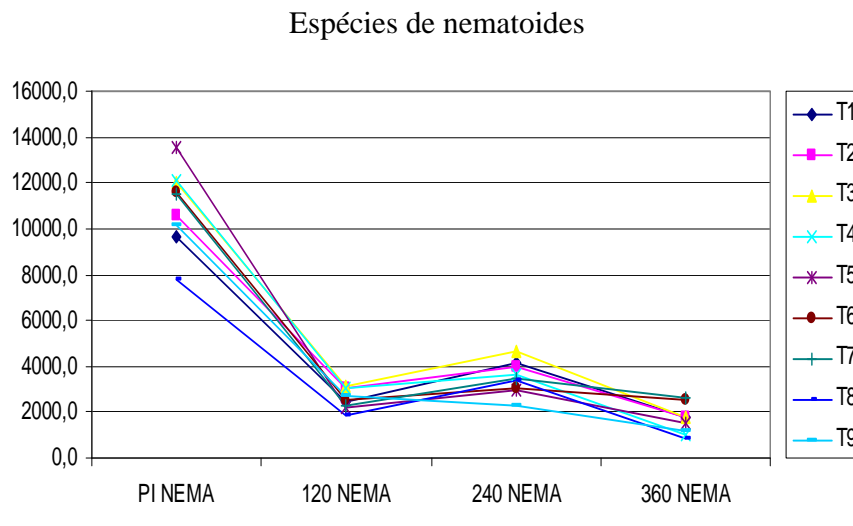
### Espécies de nematoides



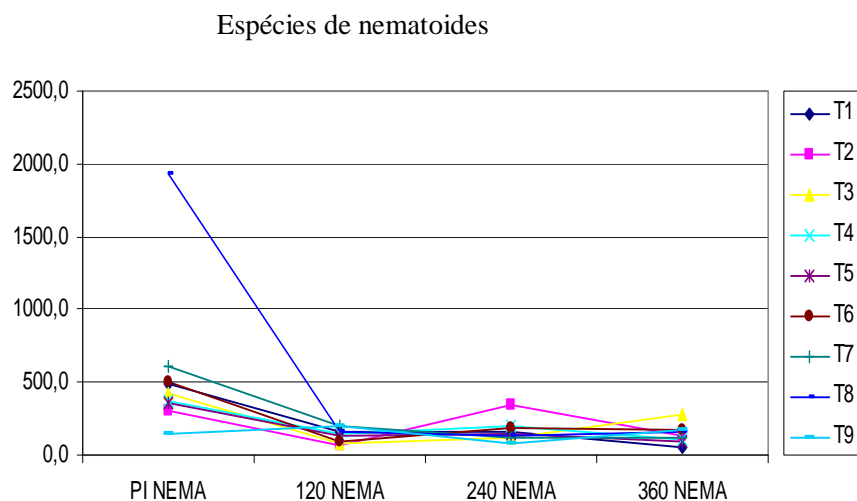
Março

**FIGURA 2** – Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em raízes de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A1:Área 1; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos).



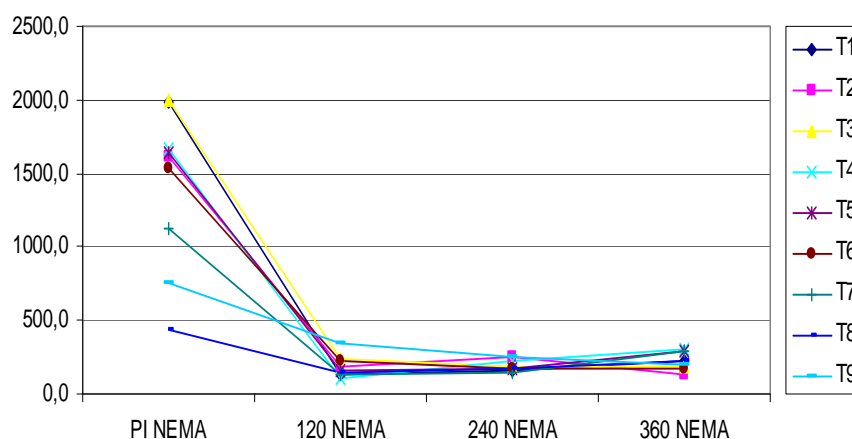


**FIGURA 3** – Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em raízes de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A2:Área2; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos).



**FIGURA 4** – Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoídes dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em solo de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A1:Área 1; PI NEMA: população inicial dos nematoídes; 120 NEMA: pop. nematoídes aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoídes aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoídes aos 360 dias após aplicação dos tratamentos).

### Espécies de nematoides



**FIGURA 5** – Efeito reducional dos tratamentos de controle biológico sobre a população dos nematoides dos gêneros *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Helicotylenchus*, em solo de bananeira, em área de cultivo comercial, na região de Janaúba. Médias de nove repetições. (A2:Área 2; PI NEMA: população inicial dos nematoides; 120 NEMA: pop. nematoides aos 120 dias após aplicação dos tratamentos; 240 NEMA: pop. nematoides aos 240 dias após aplicação dos tratamentos; 360 NEMA: pop. nematoides aos 360 dias após aplicação dos tratamentos).

Houve redução das populações de todos os gêneros de nematoides após a aplicação dos tratamentos e, ao longo do experimento, estas não voltaram a subir o que denota a eficiência dos agentes de controle biológico de forma geral. O teste de persistência do fungo *P. chlamydosporia* realizado após o término das extrações comprovou ter havido a dispersão do fungo para todas as parcelas das duas áreas experimentais. Em ambas as áreas, as populações baixaram também nos tratamentos testemunha e Furadan.

Em estudo sobre a flutuação populacional de *M. javanica* e *H. multicinctus*, em bananal comercial da cultivar ‘Prata-Anã’, irrigado por

microaspersão no município de Janaúba - MG, Ribeiro *et al.* (2009), relataram que durante as avaliações ao microscópio, observaram-se, a partir do mês de julho, vários nematoides parasitados por fungos. Isto, provavelmente, pode ter ocorrido em virtude da interrupção na aplicação de nematicidas que, anteriormente à implantação do experimento, era uma prática rotineira e poderia estar afetando a microbiota antagonista de nematoides (Gomes, 1996 citado por RIBBEIRO *et al.*, 2009).

Neves *et al.* (2009) também realizaram um estudo da flutuação populacional de nematoides. Ao longo dos anos de 2003 a 2008, foram analisadas 3120 amostras de solo e raízes, provenientes de 31 municípios de bananais no Norte de Minas Gerais e Bahia. Os autores observaram um aumento considerável nas populações de *Meloidogyne* sp., *H. multicinctus*, *Pratylenchus coffeae*, *Rotylenchulus reniformis* e *R. similis*. Estas duas últimas espécies apresentaram maiores densidades, com *R. reniformis* tendo um aumento de quatro vezes. Os autores alertam para os danos que reconhecidamente esses nematoide podem causar à cultura da banana, bem como as perdas associadas à infestação. É importante lembrar, entretanto, que esse aumento pode estar ocorrendo em virtude de desequilíbrios ocorridos na microbiota do solo em detrimento do uso, muitas vezes inadequado de nematicidas.

A utilização de controle biológico tem a vantagem de diminuir o uso de produtos químicos, apresentando benefícios de ordem econômica, ambiental e social. É atualmente considerado uma alternativa de menor risco e maior aceitação, tanto por parte dos produtores quanto dos consumidores, bem como por profissionais da área agrícola. Devem-se priorizar, na cadeia produtiva, estratégias que diminuam os custos e aumentem a produção, não colocando em risco a saúde humana e ambiental.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo dão suporte às seguintes conclusões:

- Os micro-organismos antagonistas são promissores na redução das populações dos fitonematoides em condições de campo.
- A disseminação do fungo *Pochonia chlamydosporia* em todas as parcelas experimentais reduz a população dos nematoides na cultura da bananeira.
- Os micro-organismos *P. chlamydosporia*, *B. subtilis* e *P. penetrans* aplicados separadamente, reduzem a população de fitonematoides em 75% das avaliações.
- Quando aplicados em associações, os microrganismos reduzem as populações de fitonematoides em 70% das avaliações.

## REFERÊNCIAS

ABAWI, G. S.; CHEN, J. Concomitant pathogen and pest interactions. In: BARKER, K. R.; PEDERSON, G. A.; WINDHAM, G. L. (Eds.). **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, 1998. p. 135-158.

ALVES, F. R. *et al.* Efeitos de diferentes níveis de matéria orgânica no solo e de inóculo sobre a interação planta-*Meloidogyne* spp. e a produção massal de *Pasteuria penetrans*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 397-401, 2007.

AHREN, D.; TUNLID, A. Evolution of parasitism in nematode-trapping fungi. **Journal of Nematology**, College Park, v. 35, p. 194-197, 2003.

ANDRIVON, D. Nomenclature for pathogenicity and virulence: the need for precision. **The American Phytopathology Society**, St Paul, Minnessota, v. 83, p. 889-890. 1993.

ARAÚJO, F. F. de; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e abiótico (Acibenzolar-S-Metil). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, p. 169-172. jul./set. 2009.

\_\_\_\_\_.; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. S. F. de. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 197-203, 2002.

BAPTISTA, M. J. *et al.* Eficiência da solarização e biofumigação do solo no controle da murcha-bacteriana do tomateiro no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 933-938, jul. 2007.

BETTIOL, W. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1991.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, p. 553, 1981. Suplemento.

BORDALLO, J. J. *et al.* Colonization of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. **New Phytologist**, Cambridge, v. 154, p. 491-499, 2002.

BORGES, A. L. *et al.* **Fertirrigação da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 8 p. 2006.

BOURNE, J. M.; KERRY, B. R. Effect of the host plant on the efficacy of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent of root-knot nematodes at different nematode densities and fungal application rates. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 31, p. 75-84, 1999.

BROWN, S. M.; SMART Jr, G. C. Root penetration by *Meloidogyne incognita* juveniles infected with *Bacillus penetrans*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 11, p. 75-81. 1988.

CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W. Review of *Pasteuria penetrans*: biology, ecology, and biological control potential. **Journal of Nematology**, College Park, v. 30, p. 313-340, 1998.

\_\_\_\_\_. *et al.* Suppression of *Meloidogyne arenaria* race 1 by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 28, p. 159-168. 1996.

COIMBRA, J. L.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, R. M. de. Rizobactérias, antagonistas a *Meloidogyne Javanica*. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 17, p. 88-95, 2005.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: APS Press, 1983.

COOLEN, W.A.; D'HERDE, C. J. D. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue culture.** Ghent: State Agriculture Research Centre, 1972. 77 p.

CORDEIRO, Z. J. M. **Banana: fitossanidade.** Brasília: Embrapa, 2000. 121 p. Frutas do Brasil, 8.

COSTA, D. da C. **Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em genótipos de bananeira (*Musa spp.*) no Brasil.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, FITOSSANIDADE E O FUTURO DA BANANICULTURA, 5., 2003, Paracatu. **Anais...** Cruz das Almas: Gráfica e Editora Nova Civilização, 2003. p. 114-121.

COSTA, H.; VENTURA, J. A. Manejo integrado das fruteiras tropicais: abacaxi, banana, mamão. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado de fruteiras tropicais: doenças e pragas.** Viçosa: UFV, 2002. cap. 9, p. 279-352.

DABIRÉ, K. R.; MATEILLE, T. Soil texture and irrigation influence the transport and the development of *Pasteuria penetrans*, a bacterial parasite of root-knot nematodes. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 36, p. 539-543, 2007.

DABIRÉ, R. K. *et al.* Relationships between abiotic soil factors and epidemiology of the biocontrol bacterium *Pasteuria penetrans* in a root-knot nematode *Meloidogyne javanica*-infested field. **Biological Control**, Orlando, v. 40, p. 22-29, 2007.

DALEMOLE-GIARETTA, R. **Isolamento, identificação e avaliação de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de tomateiro.** 2008. 83 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.



\_\_\_\_\_. *et al.* Associação de *Pochonia chlamydosporia*, *Bacillus cereus* e fibra de coco no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, p. 18-22, 2010.

\_\_\_\_\_. *et al.* Efeito da farinha de sementes de abóbora e de *Pochonia chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, p. 91-97, 2010.

DE LEIJ, F. A. A. M.; KERRY, B. R. The nematophagous fungus *Verticilium chlamydosporium* as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. **Revue Nématologie**, Bondy, v. 14, p. 157-164, 1991.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; MOLINA, R. DE O.; COSTA, A. T. Nematoides causadores de doenças em frutíferas. **Agro@ambiente On-line**, Boa Vista, v. 2, jan./jun. 2008. Disponível em: <<http://www.ufrr.br/revista/index.php/agroambiente/article/viewPDFInterstitial/230/169>>. Acesso em: 30 nov. 2011.

DIAS, M. S. C.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M. Nematoides na bananicultura In: SIMPÓSIO NORTE MINEIRO SOBRE A CULTURA DA BANANA, 1., 2001, Montes Claros. **Anais...** Montes Claros: Ed. Unimontes, 2001. p. 168-179.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. Efeito da torta de mamona sobre populações de nematoides fitoparasitos e a produtividade da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 34, p. 68-71, 2010.

FABRY, C. F. S. **Indução de resistência ao nematoide das galhas (*Meloidogyne spp.*) em tomateiro por rizobactérias.** 2006. 73 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

\_\_\_\_\_. *et al.* Obtenção de bactérias para a o biocontrole de *Meloidogyne javanica* por meio de aquecimento de solo e tratamento com filtrado de raízes de plantas antagonistas a fitonematoides. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 79-82, jan./fev. 2007.

\_\_\_\_\_. *et al.* Efeito da aplicação de húmus e *Rhizobium etli* sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, Boa Vista, v. 2, p. 3-8, 2008.

FAO. FAOSTAT. **Comércio:** bananas. Disponível em: <<http://www.apps.fao.org>>. Acesso em: 26 jan. 2011.

FANCELLI, M. **Importância econômica da banana**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Sistema de Produção, 6. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Versão eletrônica jan/2003. Acesso em: 13 mar. 2011.

FERRAZ, S. *et al.* **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: Ed. UFV, 2010. 306 p.

\_\_\_\_\_.; VALLE, L. A. C. **Controle de fitonematoides por plantas antagônicas**. Viçosa: Ed. UFV, 2001. 73 p.

FERREIRA, P. A. *et al.* Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, Boa Vista, v. 2, p. 15, 2008.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado mundial da banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações econômicas**, São Paulo, v. 33, out. 2003. Disponível em: <<http://www.ica.sp.gov.br>>. Acesso em: 30 nov. 2010.

FRANCE, R. A.; ABAWI, G. S. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli* on selected bean genotypes. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 26, p. 467-474, 1994.

\_\_\_\_\_. **Rizobactérias versus nematoides**. Departamento de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. Disponível em: < <http://www.ufv.br>>. Acesso em: 25 mar. 2009.

\_\_\_\_\_.; CARNEIRO, R. M. D. G. Controle biológico de nematoides por *Pasteuria* spp. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 2000. v. 2, p. 197-216.

\_\_\_\_\_. *et al.* **Controle biológico de nematoides**: estudo de casos. 27 p. Disponível em: <[http://www.rizoflora.com.br/arquivos\\_internos/arquivos/manejo\\_integrado.pdf](http://www.rizoflora.com.br/arquivos_internos/arquivos/manejo_integrado.pdf)>. Acesso em: 30 nov. 2010.

\_\_\_\_\_. *et al.* Supressividade de solo a *Meloidogyne* por *Pasteuria penetrans* nos estados do Maranhão e Santa Catarina. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas**: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009a. 341 p.

\_\_\_\_\_.; OLIVEIRA, R. D. de L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2009b. 90 p. Cadernos didáticos, 58.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Impactos das mudanças climáticas sobre o controle de doenças de plantas. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas**: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 341 p. 2009.

GOWEN, S.; QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode parasites of bananas, plantains and abaca. In: LUC, M., SIKORA, R. A., BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 1990. p. 431-60.

HIDALGO-DIAZ, L. *et al.* Nematophagous *Verticillium* spp. in soils infested with *Meloidogyne* spp. in Cuba: isolation and screening. **International Journal of Pest Management**, London, v. 46, p. 277- 84, 2000.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 26 jan. 2011.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from the soil. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 48, p. 692, 1964.

JESUS, A. M.; WILCKEN, S. R. S. Reprodução de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus coffeae* em diferentes cultivares de bananeira. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 34, p.3-9. 2010.

\_\_\_\_\_. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Saint Paul, v. 38, p. 423-41, 2000.

KIMPINSKI, J.; STURZ, A. V. Managing crop root zone ecosystems for prevention of harmful and encouragement of beneficial nematodes. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 72, p. 213-221, 2003.

KOENNING, S. R.; WALTERS, S. A.; BARKER, K. R. Impact of soil texture on the reproductive and damage potentials of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on Cotton. **Journal of Nematology**, College Park, v. 28, p. 527-536, 1996.

KRZYZANOWSKI, A. A. **Controle biológico de nematoides de galha do cafeeiro com fungos nematófagos**. 2006. 60 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

LAUGHLIN, C. W.; LORDELLO, L. G. E. Sistemas e manejo de nematoides: relações entre a densidade de população e os danos à planta. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 2, p. 15-24, 1977.

LOPES, E. A. *et al.* Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 31, p. 20-26, 2007.

LOPES, R. B. A. Indústria no controle biológico: produção e comercialização de micro-organismos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 15-28.

MACIÁ-VICENTE, J. G. *et al.* Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis var tritici*. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v. 54, p. 600-609, 2008.

MAI, W. F.; ABAWI, G. S. Interactions among root-knot nematodes and fusarium wilt fungi on host plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 317-338, 1987.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. A.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Imprensa Universitária UFRPE, 2005. p. 303-322.

MELO, I. S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa, 1998. p. 87-116.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. e AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa, 1998. v. 2, p.17-67.

MEYER, S. L. F.; ROBERTS, D. P. Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematodes and soilborne plant-pathogenic fungi. **Journal of Nematology**, College Park, v. 34, p. 1-8, 2002.

MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A. Aplicação de princípios de controle no manejo ecológico de doenças. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, p. 9-18, 2001.

\_\_\_\_\_. Controle biológico. In: MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A. **Introdução à fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2006. p. 113-122. Cadernos didáticos, 115.

MONFORT, E. *et al.* Colonization of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and development of root-rot. **Soil Biology e Biochemistry**, Elmsford, v. 37, p. 1229-1235, 2005.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009a. p. 15-28.

\_\_\_\_\_. *et al.* Controle biológico de fungos fitopatogênicos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, p. 73-82, jul./ago. 2009b.

NEVES, W. S. *et al.* Controle de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* em tomateiro por bactérias endofíticas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 102-103, 2000.

\_\_\_\_\_.; DIAS, M. S. C.; BARBOSA, J. G. Flutuação populacional de nematoides em bananais de Minas Gerais e Bahia (Anos 2003 a 2008). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, p.281-285, 2009.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R.A.; Seed treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. Review **Nematology**, v.12(1), p.77-83, 1989.

PATRÍCIO, F. R. A. **Controle de doenças de hortaliças: convencional x alternativo**. **Biológico**, São Paulo, v. 69, p. 87-90, jul./dez., 2007.

PEREIRA, L. V. *et al.* Banana (*Musa* spp.). In: PAULA JÚNIOR, T. J. de; VENZON, M. (Coord.). **101 Culturas: manual de tecnologias agrícolas**. Belo

Horizonte: EPAMIG, 2007. p. 113-124.

POWER, N. T. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, p. 253-274, 1971.

QUÉNÉHERVÉ, P. Population of nematodes in soils under banana cv. Poyo in the Ivory Coast, 2. influence of soil texture, pH and organic matter on nematode populations. **Revue de Nématologie**, Bondy, v. 11, p. 245-251, 1988.

RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Nematoides na bananicultura. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, jul./ago. p. 59-65, 2008.

\_\_\_\_\_. *et al.* Flutuação populacional e efeito da distância e profundidade sobre nematoides em bananeira no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, p. 103-111, mar. 2009.

RISTAINO, J. B.; THOMAS, W. Agriculture, methyl bromide, and the ozone hole can we fill the gaps. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, p. 964-977, 1997.

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

ROBERTS, D. P. *et al.* Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. **Crop Protection**, Guildford, v. 24, p. 141-155, 2005.

RODRIGUES, A. K.; FREITAS, L.G.; FERRAZ, S. Efeito do corte da parte aérea da planta hospedeira de *Meloidogyne* spp. sobre o desenvolvimento de *Pasteuria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 26, p. 153-160, 2002.

RODRIGUES, M. G. V.; LEITE, M. A. V. Aspectos socioeconômicos da bananicultura. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, p. 7-12, jul./ago. 2008.

\_\_\_\_\_. *et al.* Manejo do bananal de Prata-Anã cultivado no Norte de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO NORTE MINEIRO SOBRE A CULTURA DA BANANA, 1., Montes Claros. **Anais...** Montes Claros: Ed. Unimontes, 2001. p. 154-167.

SAYRE, R. M.; STARR, M. P. Bacterial diseases and antagonisms of nematodes. In: POINAR JR., G. O.; JANSSON, H. B. (Eds.). **Diseases of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 69-101.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A word perspective on nematology: the role of society. In: VEECH, A. J.; DICKSON, W. D. **Vistas on nematology**. Deleon Springs: Society of Nematologists, 1987, p. 7-14, 1987.

SCHOENBECK, F.; KLINGAUF, F.; KRAUS, P. Situation, aufgaben und perspektiven des biologischen pflanzenschutzes. **Gesunde Pflanzen**, Berlin, v. 40, p. 86-96, 1988.

SHANER, G. *et al.* Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. **Annual Review Phitopathology**, Saint Paul, v. 30, p. 47-66, 1992.

SHARMA, R. D.; VIVALDI, L. J. Controle de *Meloidogyne Javanica* com *Pasteuria Penetrans*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 2065-2069, 1999.

SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. Combination of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pochonia chlamydosporia* for control of root-infecting fungi in tomato. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, p. 215-222, 2003.

SIKORA, R. A.; CARTER, W. W. Nematode interactions with fungal and bacterial plant pathogens: facts or fantasy. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W.



(Eds.). **Vistas on nematology**. Hyattsville: Society of Nematology, 1987. p. 307-312.

\_\_\_\_\_.; SCHAFER, K.; DABABAT, A. A. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant-parasitic nematodes. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, p. 124-134, 2007.

STAFFORD, W. H. L. *et al.* Bacterial diversity in the rhizosphere of proteaceae species. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 7, p. 1755-1768, 2005.

STARR, M. P.; SAYRE, R. M. *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., mycelial and endospore-forming bacteria parasitic, respectively, on plant-parasitic nematodes of the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. **Annales de l'Institut Pasteur. Microbiology**, v. 139, p. 11-31, 1988.

STIRLING, G. R. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 74, p. 55-60. 1984.

\_\_\_\_\_. Host specificity of *Pasteuria penetrans* within the genus *Meloidogyne*. **Nematologica**, Leiden, v. 31, p. 203-209, 1985.

STIRLING, G. R.; WACHTEL, M. F. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematodes. **Nematologica** v.26: 308-312. 1980

TIAN, H.; RIGGS, R. D.; CRIPPEN, D. L. Control of soybean cyst nematode by chitinolytic bacteria with chitin substrate1. **Journal of Nematology**, College Park, v. 32, p. 370-376, 2000.

TIHOHOD, D. **Guia prático para a identificação de fitonematoides**. Jaboticabal: FCAV, 1997.

VENTURA, J. A.; HINZ, R. H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. (Eds.). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: Ed. UFV, 2002. 2 v.

VERDEJO-LUCAS, S. *et al.* Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica* **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, p. 521-528, 2003.

WEBSTER, J. M. Interactions of *Meloidogyne* with fungi on crop plants. In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. v. 1, p. 183-192.

ZUCHERMAN, B. M.; MAI, W. F.; HARRISSON, M. B. **Plant nematology: laboratory manual**. Amherst: The University of Massachusetts Agricultural Experimental Station, 1985. 212 p.