



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

**APLICAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM
EXPLANTES E PLÂNTULAS DE
BANANEIRA 'PRATA-ANÃ' NO
CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* E NO
DESENVOLVIMENTO DE MUDAS**

POLLYANNA SANTIAGO LOPES

2011

POLLYANNA SANTIAGO LOPES

**APLICAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM
EXPLANTES E PLÂNTULAS DE BANANEIRA
'PRATA-ANÃ' NO CONTROLE DE *Meloidogyne*
javanica E NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS**

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”.

Orientadora
Prof^a. D.Sc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro

JANAÚBA
MINAS GERAIS – BRASIL

L864a Lopes, Pollyanna Santiago.
Aplicação de rizobactérias em explantes e plântulas de bananeira 'Prata-Anã' no controle de *Meloidogyne javanica* e no desenvolvimento de mudas. [manuscrito] / Pollyanna Santiago Lopes. – 2011.
123 p.

Dissertação (mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2011.
Orientadora: Prof^ª. D.Sc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro.

1. Bananeira Prata-Anã. 2. Mudanças. 3. *Musa* spp. 4. Nematóides. I. Ribeiro, Regina Cássia Ferreira. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD. 634.772

POLLYANNA SANTIAGO LOPES

**APLICAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS EM EXPLANTES E
PLÂNTULAS DE BANANEIRA ‘PRATA-ANÃ’ NO CONTROLE DE
Meloidogyne javanica E NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS**

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 Mestre.

APROVADA em 18 de março de 2011.

Prof^ª. D.Sc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro
(Orientadora)

Prof^ª. D.Sc. Adélica Aparecida Xavier Prof. D.Sc. Edson Hiydu Mizobutsi
(Coorientadora) (DCA- UNIMONTES)

Prof^ª. D.Sc. Márcia Regina Costa Prof. D.Sc. Fernando da Silva Rocha
(DCA-UNIMONTES) (ICA-UFMG)

**JANAÚBA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011**

*A Deus, sem ele nada seria
possível;
Aos meus pais, Marilene e Edilson;
A meu irmão, Diogo;
Ao meu noivo, Rafa;
À minha amada avó Lia.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus , pela graça de ter transformado meu esforço nesta vitória;

Aos meus pais, Marilene e Edilson, meu eterno reconhecimento por terem me conduzido a esta conquista; e a meu irmão, Diogo, pelo estímulo;

Ao meu noivo Rafa, pelo companheirismo, compreensão, dedicação, paciência e amor incondicional;

A minha avó Lia (meu anjo), pelo carinho e apoio;

À CAPES, pela bolsa concedida.

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro, para execução deste trabalho;

Minha gratidão à professora Regina, pelos ensinamentos, oportunidade, orientação, paciência e competência;

À professora Adelica, pelo auxílio na realização do trabalho e dedicação;

À professora Márcia, pela ajuda e disposição;

Aos colegas de laboratório de Fitopatologia, em especial, Leandro e Lívia, “meus irmãos” e companheiros. A Isac, Acleide, Humberson, André, Josiane, Bruna, Rafael e Maria Isabel, por me ensinarem a trabalhar em equipe e por toda ajuda que me deram sempre que precisei;

Ao laboratório de Biotecnologia, principalmente, Josiane, pela ajuda com a produção de mudas micropropagadas;

Aos funcionários Dona Ana, Senhor Nelson, Walter, Penha, Tereza, pelo carinho e por sempre estarem dispostos a nos ajudar;

Aos amigos incondicionais que estiveram sempre ao meu lado compartilhando todas as angústias, desesperos e alegria, Irani, Suzy e Joseilton, muito obrigada pela paciência.

Não fosse compartilhar com todos vocês, esta jornada teria sido muito mais árdua.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
TRATAMENTO DE EXPLANTES DE BANANEIRA ‘PRATA-ANÃ’ COM RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne javanica</i> E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS	21
RESUMO	22
ABSTRACT	24
1 INTRODUÇÃO	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1 Obtenção de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’	29
2.2 Multiplicação e obtenção do inóculo e juvenis de <i>Meloidogyne javanica</i>	30
2.3 Multiplicação de rizobactérias	31
2.4 Avaliação <i>in vitro</i> da colonização das raízes a partir de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ tratados com rizobactérias	32
2.5 Efeito do tratamento de explantes de bananeira sobre o controle de <i>Meloidogyne javanica</i> e desenvolvimento de mudas	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.2 Avaliação <i>in vitro</i> da colonização das raízes de mudas pelos isolados de rizobactérias	38
3.3 Efeito do tratamento de explantes de bananeira sobre o controle de <i>Meloidogyne javanica</i> e desenvolvimento de mudas	45
3.3.1 Análises nematológicas	46
3.3.2 Análises Agronômicas	48
4 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
PERÍODOS DE TRATAMENTO DE RAÍZES DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA ‘PRATA-ANÃ’ COM RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DE <i>Meloidogyne javanica</i> E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS	60
RESUMO	61
ABSTRACT	63
1 INTRODUÇÃO	65
2 MATERIAL E METÓDOS	68
2.1 Obtenção de mudas micropropagadas de bananeira	68

2.2 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o controle de <i>Meloidogyne javanica</i>	69
2.3 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o desenvolvimento de mudas de bananeira	72
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
3.1 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o controle de <i>Meloidogyne javanica</i>	74
3.1.1 Características Agronômicas	74
3.1.2 Variáveis nematológicas	80
3.2 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o desenvolvimento de mudas de bananeira	91
4 CONCLUSÕES	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

TABELAS

01 Origem de isolados de rizobactérias provenientes de diferentes municípios do Norte de Minas Gerais de rizosfera de bananeira “Prata-Anã.”.....	32
02 Ocorrência de colonização no sistema radicular (SR), na região do rizoma (RR) e morte (M) de raízes de bananeira ‘Prata-Anã’ <i>in vitro</i>	39
03 Médias das variáveis altura, comprimento da raiz (CR) e peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de plântulas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após um mês de cultivo sob condições <i>in vitro</i>	43
04 Efeito de diferentes filtrados de raízes produzidos por explantes tratados com diferentes rizobactérias sobre a mortalidade de J2 de <i>M. javanica</i>	44
05 Médias de variáveis nematológicas, fator de reprodução (FR), número de galhas, massas de ovos, ovos por sistema radicular de bananeira e número de juvenis de segundo estágio (J2) por 100 cm ³ de solo de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, obtidas a partir de explantes tratados com isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	47
06 Médias das variáveis agronômicas, número de folhas, peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA), peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) e peso de matéria fresca da raiz (PMFR) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, obtidas a partir de explantes tratados com diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	50
01 Médias das variáveis, altura, diâmetro de pseudocaule (DP), peso de matéria fresca da raiz (PMFR), peso de matéria fresca da parte aérea (PMFPA) e peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ tratadas com diferentes isolados de rizobactérias e inoculadas com <i>M. javanica</i>	75
02 Médias das variáveis altura, diâmetro do pseudocaule (DP), peso de matéria fresca da raiz (PMFR), peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA) e peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, tratadas com isolados bacterianos por dois períodos de imersão, 60 dias após o cultivo.....	79

03 Médias do fator de reprodução (FR) de <i>M. javanica</i> por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	81
04 Médias do número de galhas de <i>M. javanica</i> por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	82
05 Médias do número de massas de ovos de <i>M. javanica</i> por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	84
06 Médias do número de ovos de <i>M. javanica</i> por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	86
07 Médias de juvenis de segundo estágio (J2) de <i>M. javanica</i> por 100 cm ³ de solo cultivado com mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	88
08 Médias da altura de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	93
09 Médias do peso de matéria fresca da raiz (PMFR) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	95
10 Médias do peso de matéria seca da raiz (PMSR) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	97
11 Médias do peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	99
12 Médias de peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.....	101

FIGURAS

01 Ausência de colonização de rizoma e raiz em explante tratado apenas com solução salina (A); colonização de rizoma pelo isolado <i>B. pumilus</i> -1 (B); necrose de rizoma e pseudocaule de explante tratado com <i>B. pumilus</i> -76 (C).....	40
---	----

RESUMO GERAL

LOPES, Pollyanna Santiago. **Aplicação de rizobactérias em explantes e plântulas de bananeira ‘Prata-Anã’ no controle de *Meloidogyne javanica* e no desenvolvimento de mudas**. 2011. 123 p. Dissertação (Mestrado Produção Vegetal no Semiárido)- Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba- MG¹

A banana é uma das frutas de maior importância econômica no mundo e no Brasil. Durante o ciclo da cultura vários fatores podem contribuir para a redução da qualidade e produtividade. Dentre esses, os fitonematoides, principalmente *Meloidogyne* spp, se destacam por apresentarem ampla disseminação e difícil controle. Dentre as medidas de controle que integram o manejo de nematoides destaca-se o uso de mudas micropropagadas. No entanto, há relatos de que tais mudas são mais suscetíveis a nematoides e fungos quando transplantadas. Assim, uma medida preventiva dentro do manejo integrado é o uso de antagonistas no tratamento de mudas micropropagadas. Dentre esses, as rizobactérias têm mostrado grande potencial para o controle de nematoides e muitas promovem o crescimento de plantas. Os objetivos deste trabalho foram avaliar o tratamento de explantes e de raízes de mudas de bananeira Prata Anã, por diferentes isolados de rizobactérias no controle de *M. javanica* e no desenvolvimento de plantas. O presente trabalho foi realizado no laboratório de Fitopatologia e Biotecnologia do *Campus* Janaúba da Universidade Estadual de Montes Claros. Foram montados quatro ensaios. No ensaio 1 avaliou-se, *in vitro*, a colonização radicular e de rizoma por rizobactérias, o desenvolvimento das mudas e o efeito da suspensão obtida das raízes sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. javanica*. No ensaio 2, as mudas produzidas a partir de explantes tratados com as rizobactérias foram plantadas em vasos contendo solo e avaliaram-se o desenvolvimento de plantas e o controle de *M. javanica*. No ensaio 3 avaliou-se o tratamento de raízes de mudas micropropagadas com dez isolados de rizobactérias por dois períodos de tempo no controle de *M. javanica* e no ensaio 4 avaliou-se o efeito do tratamento de raízes das mudas com dez isolados de rizobactérias por dois períodos de tempo no desenvolvimento de plantas. Na avaliação do tratamento de explantes, quatro bactérias colonizaram a região do rizoma, proporcionando desenvolvimento de plântulas e provocando alta mortalidade de J2 de *M. javanica*. No tratamento de raízes de mudas, *P. lentimorbus*- 17 e *B. pumilus*- 76 se destacaram no controle do nematoide e na promoção de crescimento de plantas.

¹ Comitê de Orientação; Prof^a Regina Cássia Ferreira Ribeiro- DCA/UNIMONTES (Orientadora); Prof^a Adélica Aparecida Xavier- DCA/UNIMONTES (Coorientadora); Prof^a Márcia Regina Costa-DCA/UNIMONTES; Prof^o Edson Hiydu Mizobutsi-DCA/UNIMONTES; Prof^o Fernando da Silva Rocha- ICA/UFMG

Palavras-chave: *Bacillus* spp., *Paenibacillus* sp., *Musa* spp. nematoides de galhas, mudas , explantes, controle biológico.

GENERAL ABSTRACT

LOPES, Pollyanna Santiago. **Application of rhizobacteria in explants and plantlets of 'Prata-Anã' banana in *M. javanica* control and plantlets growth.** 2011. 123 p. Dissertation (Master's degree in Plant Production in the Semiarid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.¹

Banana is one of the most important fruit economically worldwide and in Brazil. During the crop cycle several factors may contribute to reduced quality and productivity. Amongst them the phytonematodes, mainly, *Meloidogyne* spp, are distinguished by their large spread and difficult control. Amongst the control measures that integrate the nematodes management, the use of micropropagated plantlets is stood out. However, there are reports that such plantlets are more susceptible to nematodes and fungi when transplanted. Thus, the use of antagonists in the treatment of micropropagated plantlets is one preventive way in the integrated management. Amongst those, the rhizobacteria has shown great potential for nematode control and many provide the plantlets growth. This work aimed to evaluate the root and explants treatment of Prata-Anã plantlets by means of different bacteria isolates of rhizobacteria to control *M. javanica* and provide plantlets development. This study was carried out at Phytopathology laboratory and Biotechnology one at Universidades Estadual Montes Claros, Janauba Campus. plantlets. Four essays were set. In the 1 essay, it was evaluated, *in vitro*, rhizome and root colonization by rhizobacteria, , plantlets growth and the effect of the suspension obtained from the roots on the mortality of second stage juveniles of *M. javanica*. In the 2 essay, the plantlets grown from explantlets treated with rhizobacteria were planted in pots containing soil and their development and control of nematodes were evaluated. In 3 essay, it was evaluated the treatment of roots of plantlets with ten isolates of rhizobacteria for two periods to control *M. javanica*, and in the 4 essay, it was evaluated the effect of treatment of roots of ten isolates of rhizobacteria for two periods on the plantlets growth. In the evaluation of explants treatment plantlets, four bacteria colonized the rhizome region, providing plantlets development and causing high mortality of J2 of *M. javanica*. In the treatment of roots of plantlets, *P. lentimorbus*-17 e *B. pumilus*-76 were stood in the control of nematodes and promoting plantlets growth.

Key-words: *Bacillus* spp., *Paenibacillus* sp., *Musa* spp., root-knot nematodes, plantlets, explants, biological control.

¹ Guidance Committee: Regina Cássia Ferreira Ribeiro- DCA/UNIMONTES (Adviser); Adelica Aparecida Xavier- ASD/UNIMONTES (Co-adviser); Márcia Regina Costa- ASD/UNIMONTES; Edson Hiydu Mizobutsi- ASD/UNIMONTES; Fernando da Silva Rocha- ASI/UFMG

1 INTRODUÇÃO GERAL

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas no mundo, sendo explorada na maioria dos países tropicais. No Brasil, essa fruteira é cultivada em todos os estados da Federação, fato que contribui para que o país esteja em quarto lugar na produção mundial. Minas Gerais é o quinto maior produtor do Brasil (AGRIANUAL, 2011), representando um grande e importante papel social, especialmente na região Norte.

Dentre as cultivares, a Prata-Anã, também conhecida como “Enxerto”, é produzida em diversos Estados brasileiros e tem-se destacado no cenário nacional, principalmente nos perímetros irrigados da região do Norte de Minas Gerais (SOUTO *et al.*, 1999).

Embora a produção brasileira de banana seja de 7.116.808 t em 513.656 hectares (AGRIANUAL, 2011), ainda existe potencial para o aumento de produção. Entretanto, o manejo inadequado da cultura e, principalmente, a incidência de doenças causadas por fungos, bactérias e nematoides contribui com as perdas na produção. Dentre esses patógenos, os nematoides se destacam pela sua ampla gama de disseminação e por provocarem perdas estimadas em 20% (SASSER e FRECKMAN, 1987).

Na cultura da banana, são relatadas 146 espécies de nematoides parasitas associadas à rizosfera, distribuídas em 43 gêneros (GOWEN e QUÉNÉHERVÉ, 1990). Os nematoides *Radopholus similis* (Cobb) Thorne, 1949 *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) e *Meloidogyne* spp. (Goeldi, 1887) são considerados os mais importantes nas regiões produtoras de banana no mundo (COSTA, 2000).

Em levantamento realizado em bananais no Norte de Minas, Dias *et al.* (2001) detectaram presença de *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp. (Steiner, 1945), *R. similis*, *Aphelenchoides* spp. (Fischer, 1894), *Pratylenchus* spp. (Filipjev, 1936), sendo os mais frequentes *Helicotylenchus* spp., *R. similis* e *Meloidogyne* spp.

Diversas espécies de *Meloidogyne* são relatadas associadas às raízes de bananeira. Entretanto, as de maior ocorrência e amplamente distribuídas nos Estados brasileiros são *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 (ZEM *et al.*, 1980; ZEM *et al.*, 1984).

Os nematoides são disseminados através da comercialização indiscriminada de mudas infectadas entre os bananicultores. Assim, uma forma de minimizar os danos causados por esse patógeno é o uso de material propagativo sadio, por meio de mudas micropropagadas, que apresentam grande qualidade sanitária.

Vários métodos são usados no controle de fitonematoides. No Norte de Minas, o método de controle mais usado é o químico, seja no bananal em condução ou no plantio. Contudo, esse método apresenta vários inconvenientes, como alto custo dos produtos, intoxicação pela exposição aos produtos, contaminações de fontes de água e destruição da microflora (VILAS BOAS *et al.*, 2002). Devido a essas desvantagens do uso do controle químico, existem pressões por parte da sociedade para que seu uso seja cada vez mais restrito e, uma demanda, por parte dos agricultores, por produtos que sejam ao mesmo tempo atóxicos ao homem e animais, baratos e efetivos no controle de nematoides fitoparasitas.

Uma das medidas preventivas dentro do manejo integrado de doenças de bananeira é a utilização de mudas micropropagadas, que apresentam vantagem de maior uniformidade genética e garantia sanitária (BORGES *et al.*, 1997). Todavia, existem relatos na literatura de que tais mudas são mais suscetíveis a patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Smith) Snyder e Hansen e nematoides fitoparasitas (SMITH *et al.*, 1997)

Diante das dificuldades no controle dos fitonematoides, uma medida dentre as várias no manejo integrado seria o tratamento das mudas micropropagadas de bananeira com o uso de antagonistas, que é uma opção ecológica aos métodos tradicionais de controle. Existem mais de 200

diferentes organismos considerados antagonistas dos fitonematoides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, ácaros e outros (KERRY, 1990; POINAR e JANSSON, 1988). Dentre esses, as rizobactérias têm mostrado grande potencial para o controle de nematoides e têm sido muito estudadas para várias culturas pois, além de atuarem no controle de nematoides, muitas promovem o crescimento das plantas (LAZAROVITS e NOWAK, 1997).

Dessa forma, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o controle de *M. javanica* e a promoção de crescimento das mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ por diferentes isolados de rizobactérias.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais produzidas e consumidas no mundo, sendo explorada na maioria dos países tropicais com produção mundial de 90,7 milhões de toneladas (FAO, 2010).

O maior produtor da fruta é a Índia com 23.204.800 toneladas, seguido pela Filipinas com 8.687.624 toneladas. O Brasil é o quarto maior produtor com 7.116.808 toneladas. Essa fruteira é cultivada em todos os Estados brasileiros e, no Estado de Minas Gerais, no ano de 2010, a produção foi de 654.861 toneladas (AGRIANUAL, 2011). A região Norte-Mineira constitui-se em um dos polos de produção de banana altamente tecnificada. Além disso, é responsável por 60 mil empregos diretos e indiretos, o que caracteriza tal atividade como de grande importância socioeconômica para a região (ABANORTE, 2008).

Durante o ciclo da cultura, vários fatores podem contribuir para a redução da qualidade e produtividade. Dentre estes, destaca-se a incidência de doenças, das quais a Sigatoka Amarela, Sigatoka Negra, Mal do Panamá e os nematoides são os mais importantes (CARLIER *et al.*, 2003).

Os nematoides se destacam por apresentarem ampla disseminação, controle difícil e oneroso. A sua disseminação ocorre pelo uso de mudas infestadas, trânsito de máquinas e implementos, veículos e embalagens dos frutos entre lavouras.

As perdas causadas por fitonematoides podem chegar de 80% a 100% em bananeira ‘Nanicão’ no Brasil (ZEM e ALVES, 1981). Esses patógenos causam lesões radiculares, nanismo na planta, prolongamento do estágio vegetativo, redução de números de raízes ativas, clorose foliar, diminuição de produção e tamanho de frutos, até tombamentos de plantas (RITZINGER e COSTA, 2004).

Diversas espécies de fitonematoides têm sido identificadas associadas às raízes e ao solo da rizosfera de plantas de bananeira. No

entanto, os que ocorrem com maior frequência e causam perdas na bananeira são *R. similis*, *M. incognita*, *Helicotylenchus multicinctus* (Coob, 1983) Golden, 1956, *P. coffeae* e *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira) (COSTA *et al.*, 1997; FERRAZ, 1995; GONZAGA, 1997). Em levantamento realizado, em bananais no Norte de Minas, por Dias *et al.* (2001), foi relatada a presença de *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus* spp., *R. similis*, *Aphelenchoides* spp., *Pratylenchus* spp. Desses, os mais frequentes foram *Helicotylenchus* spp., *R. similis* e *Meloidogyne* spp.

Diversas espécies de *Meloidogyne* são relatadas associadas às raízes de bananeira. Entretanto, as de maior ocorrência e amplamente distribuídas nos Estados brasileiros são *M. incognita* e *M. javanica* (ZEM *et al.*, 1980.; ZEM *et al.*, 1984).

As espécies do gênero *Meloidogyne* caracterizam-se por acentuado dimorfismo sexual; a fêmea apresenta o corpo globoso, periforme ou em forma de saco, e imóvel; o macho tem corpo vermiforme e é inativo. A penetração das raízes ocorre pelo juvenil de segundo estágio vermiforme, pela região meristemática; em seguida migra até a zona de maturação, onde estabelece um local de alimentação na região vascular, tornando-se sedentária. Passa por três ecdises até atingir a fase adulta, quando adquire corpo globoso. Deposita seus ovos no exterior da raiz. Os ovos que a fêmea lança para o exterior permanecem unidos por meio de uma matriz gelatinosa secretada pela própria fêmea durante a oviposição. O sintoma característico do ataque desse nematoide é o engrossamento localizado nas radículas formando galhas. O desenvolvimento das galhas radiculares se dá pela hipertrofia e hiperplasia de células do parênquima vascular da raiz. As células hipertróficas multinucleadas funcionam como verdadeiros reservatórios no suprimento alimentar dos nematoides sedentários. A formação de células gigantes, como resultado da infecção pelo nematoide, provoca uma interrupção e desorganização do sistema vascular. Consequentemente há uma diminuição na absorção e no transporte de água e nutrientes (AGRIOS, 2004).

Os sintomas mais evidentes da infecção de *Meloidogyne* são as raízes primárias e secundárias atrofiadas e com galhas. Trabalho realizado em solos de textura leve e de baixa fertilidade, na região de Petrolândia-PE, demonstrou que densidades elevadas de *M. incognita* causaram a morte das raízes, impedindo a absorção de água e nutrientes. Por conseguinte, os cachos não atingiram a maturação ou esta foi atrasada com amadurecimento desuniforme dos frutos. Além disso, os cachos eram pequenos, de pouco peso, menor número de frutos, menor peso de pencas e com baixo rendimento, quando comparados com os valores médios obtidos para a cultura (COSTA, 1997).

Segundo De Waele e Davide (1998), *M. javanica* causa amarelecimento e estreitamento das folhas, redução do crescimento das plantas e da produção de frutos. Fungos de solo também podem estar associados a *Meloidogyne* spp. causando danos à bananeira.

Vários métodos são usados no controle de fitonematoides. Dentre esses, a utilização de controle genético é uma das medidas mais eficiente, porém, nem sempre é possível por falta de fontes de resistência para o melhoramento genético, pela falta de adaptabilidade das cultivares resistentes a determinadas regiões ou épocas de plantio. A rotação de culturas é muito útil para o manejo de algumas espécies de nematoides, mas é complicada para outros, como *Meloidogyne* spp., que possuem ampla gama de hospedeiros (FREITAS e FERRAZ, 2007), e especificamente na cultura da bananeira por ser uma cultura perene.

A medida de controle mais utilizada no Norte de Minas para a redução desses fitonematoides é o químico. Todavia, sabe-se que o uso indiscriminado de nematicidas, além de onerar a produção, coloca em risco a saúde dos aplicadores e consumidores. Atualmente, as estratégias prioritárias de manejo de fitonematoides são aquelas que diminuem custos, aumentam a produção e não agridem o ambiente.

Uma das medidas preventivas visa a evitar a dissiminação de nematoides por meio de mudas. Neste contexto, o uso de mudas

micropropagadas é uma técnica eficiente, visto que isto se deve aos cuidados tomados desde a retirada de mudas no campo, evitando-se a coleta de material de plantas-matriz provenientes de áreas infestadas por patógenos até no laboratório com a retirada de partes externas do rizoma e das bainhas.

As mudas micropropagadas, ao mesmo tempo em que são livres de nematoide e outros patógenos e pragas, também estão menos associadas com micro-organismos benéficos, o que as torna altamente suscetíveis. Existem relatos na literatura de que tais mudas são mais suscetíveis a patógenos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e nematoides fitoparasitas. De acordo com Smith *et al.* (1997), mudas micropropagadas se mostraram mais suscetíveis a *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, *R. similis* e *H. multicinctus*. Resultados semelhantes foram obtidos por Blomme *et al.* (2004) que verificaram que plantas de bananeiras do subgrupo AAA e AAB, originadas de mudas de perfilhos, foram mais tolerantes à mistura de populações dos fitonematoides *H. multicinctus*, *H. dihystra* (Cobb, 1983), *Hoplolaimus pararobustus* (Schewrmans Stekhoven and Teunissen, 1938) Comans 1963, *R. similis* e *Meloidogyne* spp. do que às produzidas segundo a técnica de cultura de tecidos.

Diante desses problemas, uma medida adequada ao controle dos nematoides seria o tratamento dessas mudas micropropagadas com inimigos naturais. Existem mais de 200 diferentes organismos considerados antagonistas dos fitonematoides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, ácaros e outros (KERRY, 1990; POINAR e JANSSON, 1988). Dentre esses, as rizobactérias têm mostrado grande potencial para o controle de nematoides e têm sido muito estudadas pois, além de atuarem no controle de nematoides, muitas promovem o crescimento das plantas, já que as mudas micropropagadas também eliminam a microbiota benéfica ao crescimento vegetativo (LAZAROVITS e NOWAK, 1997).

As rizobactérias se estabelecem na rizosfera, região do solo na qual sofre influência de exsudatos que promovem ou inibem a atividade microbiana (CURL, 1982). A liberação de exsudatos pelas raízes cria uma

zona rizosférica, facilitando aos micro-organismos presentes a mineralização dos nutrientes e tornando-os, assim, disponíveis para imediata absorção pelas raízes (SCHIPPERS *et al.*, 1987). Essas bactérias podem ser simbióticas ou saprófitas. Elas interagem com as plantas e são capazes de colonizar e persistir em suas raízes (WELLER e THOMASHOW, 1994). As bactérias que desempenham efeitos benéficos, por promoverem o crescimento das plantas por influência direta (aumento de solubilização e entrada de nutrientes ou produção de reguladores de crescimento vegetal), ou protegê-las contra fitopatógenos, através da influência indireta, são nomeadas de PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (ASGHAR *et al.*, 2002; KLOEPPER *et al.*, 1990).

As rizobactérias utilizam vários mecanismos de ação como produção de reguladores de crescimento, produção de sideróforos, (BORANIN *et al.*, 1993), de antibióticos (MICHENER e SMELL, 1949), ácido hidrocianico (HCN) (LUZ, 1996) e mineralização de nutrientes (LIFISHITZ *et al.*, 1988). Mais de um mecanismo pode ser utilizado por uma rizobactéria (MELO, 1998). A maioria das espécies pertence ao gênero *Pseudomonas* (Migula, 1894) ou *Bacillus* (Cohn, 1872), mas são relatados outros gêneros como *Azotobacter* (Beijerinck, 1901), *Clostridium* (Prazmowski, 1880), *Enterobacter* (Hormaeche and Edwards, 1960) e *Serratia* (Bizio, 1823) (BENIZRI *et al.*, 2001).

O gênero *Bacillus* é formado por bactérias em forma de bastonete, são gram-positivas, móveis e com formação de endósporos altamente resistentes ao calor. A promoção de crescimento das plantas mediada por *Bacillus* é realizada por meio de vários mecanismos; como produção de fitohormônios e estimuladores de crescimento, e mobilização de fosfato (DATTA *et al.*, 1982). Além do mais, esse gênero apresenta mecanismos de ação contra patógenos como produção de sideróforos e antibióticos (LUZ, 1996) e indução de resistência (RAMAMOORTHY *et al.*, 2001).

Membros do gênero *Paenibacillus* (Ash *et al.*, 1994) são organismos em forma de bastonetes, aeróbicos ou anaeróbicos facultativos que

produzem esporos elípticos. Fenotipicamente, as espécies deste grupo reagem fracamente com a coloração de gram e até mesmo colônias jovens podem aparecer como gram-negativas, apesar de serem gram-positivas (SHIDA *et al.*, 1997). As espécies desse gênero são conhecidas por produzirem compostos antifúngicos, antimicrobianos (CHUNG *et al.*, 2000) e antibióticos (RAZA *et al.*, 2008). Ademais, muitas espécies apresentam capacidade de promover o crescimento de plantas através da fixação de nitrogênio e produção de hormônios vegetais (TIMMUSK *et al.*, 1999; LEBUHN *et al.*, 1997).

Os mecanismos de ação de rizobactérias específicos sobre os fitonematoides atuam sobre determinadas etapas da vida do nematoide. A produção de antibióticos e toxinas pode impedir o desenvolvimento embrionário e a formação do juvenil. Os metabólitos produzidos no local de estabelecimento e a degradação de exsudatos radiculares reduzem o estímulo à eclosão e causam a interferência na mobilidade e no processo de reconhecimento da raiz pelo nematoide. Este último mecanismo ocorre devido à ação das bactérias nas lecitinas. Além dos efeitos diretos, as rizobactérias são capazes de ativar mecanismos de defesa das plantas através da indução de resistência sistêmica, desencadeando reação de hipersensibilidade nas células gigantes, que vão interferir principalmente na alimentação e reprodução desse patógeno (FREITAS, 2001; OOSTENDORP e SIKORA, 1990; KERRY, 2000).

Vários autores têm relatado a eficiência das rizobactérias na promoção de crescimento de plantas e no controle dos fitonematoides (BECKER *et al.*, 1988; KLOEPPER *et al.*, 1980; SIDDIQUI e MAHMOOD, 1995).

Os gêneros *Bacillus* e *Paenibacillus* promovem o crescimento de plantas principalmente pela produção de fito-hormônios vegetais, citocininas, giberelinas e auxinas (TIMMUSK *et al.*, 1999; KARADENIZ *et al.*, 2006; LEBUHN *et al.*, 1997). Resultados positivos foram obtidos por Ali *et al.* (2009) que verificaram que *B. pumilus* (Meyer e Gottheil, 1901), *B.*

subtilis (Ehrenberg, 1835) Cohn, 1872 e *B. megaterium* (Bary, 1884) propiciam o crescimento de *Vigna radiata*. Segundo esses autores esta promoção de crescimento na planta foi devido à produção de auxina. Carvalho *et al.* (2009) verificaram promoção de crescimento de coleótilo de trigo por *B. pumilus*, que pode ter sido decorrente deste isolado apresentar capacidade de produzir giberelinas e AIA.

Araújo *et al.* (2010) isolaram 302 bactérias da rizosfera de bananeira da variedade ‘Prata-Anã’ e Prata-Comum, das quais 13 proporcionaram resultados positivos nos bioensaios de detecção de características de promoção de crescimento em mudas micropropagadas de bananeira.

Siddiqui *et al.* (2001) constataram, por meio de testes *in vitro*, efeito nematicida de diferentes isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter, 1872) e *Bacillus subtilis* sobre juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* e zonas de inibição do crescimento de *Macrophomina phaseolina* (Taiss) Gord, 1947, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc e *Rhizoctonia solani* (Kunh, 1858). Neipp e Becker (1999) observaram redução de infecção de *Heterodera schachtii* (A. Schmidt, 1871) por bactérias em beterraba açucareira. Siddiqui *et al.* (2003) relataram supressão de *M. javanica in vitro* e em casa de vegetação por *P. aeruginosa* isolado IE-6S+.

Aalten *et al.* (1998) verificaram o controle de *Meloidogyne* spp. e *R. similis* em bananeira, milho e tomateiro em casa de vegetação quando utilizaram diferentes isolados de *Pseudomonas fluorescens* (Migula, 1895).

Resultados positivos foram observados por Araújo e Marchesi (2009) que comprovaram que o isolado de *B. subtilis* (PRBS-1), além de reduzir a reprodução dos nematoides formadores de galhas em raízes de tomateiro, também aumentou a biomassa da parte aérea das plantas.

Araújo *et al.* (2002) avaliaram a influência de *B. subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952), em experimento *in vitro*. Observaram que a presença de *B. subtilis* reduziu a eclosão de juvenis de *H. glycines*. Também constataram que o tratamento de raiz de soja com a bactéria inibiu a migração de larvas de juvenis de *H.*

glycines para a planta em comparação à raiz não tratada com a bactéria. Os autores observaram ainda, em casa de vegetação, uma redução de fêmeas nas raízes de soja quando o solo e sementes foram tratados previamente com formulação pó molhável contendo *B. subtilis*.

Rocha *et al.* (2009) avaliaram o efeito de 20 isolados de filtrados de rizobactérias de bananeira sobre a mortalidade e mobilidade de J2 de *M. javanica*. Daqueles filtrados, doze proporcionaram mortalidade acima de 97%; e seis, imobilidade de J2 significativamente superior às testemunhas.

Em trabalho realizado por Khan *et al.* (2008), os autores demonstraram o controle de *M. incognita in vitro* e em casa de vegetação quando utilizaram diferentes concentrações de filtrados de *Paenibacillus polymyxa* em mudas de tomateiro (Prazmowski, 1880) (ASH *et al.*, 1994).

Coimbra *et al.* (2005) testaram noventa e dois isolados obtidos de várias espécies de plantas no controle de *M. javanica* em tomateiro em casa de vegetação. Dentre esses, 47 isolados demonstraram exercer antagonismo a *M. javanica* e desses, 34 isolados reduziram o número de galhas por planta.

Além dos estudos do controle de rizobactérias sobre os nematoides, a literatura apresenta ainda relatos sobre a combinação de outros agentes biológicos com as rizobactérias no controle de fitonematoides. Jonathan *et al.* (2000) avaliaram o controle de *M. incognita* em tomateiro e bananeira com rizobactérias, actinomicetos e *Pasteuria penetrans* (Thorne, 1940) Sayre e Starr, 1986 em casa de vegetação. Observaram que tanto as bactérias como os actinomicetos favoreceram o crescimento de ambas as culturas e reduziram o desenvolvimento de galhas nas raízes de tomate quando comparadas com a testemunha. As bactérias diminuíram o fator de reprodução de *M. incognita* em ambas as culturas que mantiveram entre em 9 e 24, enquanto que a testemunha apresentou 143.

Promoção de crescimento de plantas e controle de *M. javanica* em lentilha foram avaliados por Siddiqui *et al.* (2006) em experimento *in vitro* e em casa de vegetação. Os autores verificaram que *Rhizobium* (Frank, 1948) e quatro rizobactérias *Pseudomonas putida* (Trevisan, 1889) Migula, 1895, *P.*

alcaligenes (Monias, 1928), *P. polymyxa* e *Bacillus pumilus* inibiram a eclosão e a penetração de J2.

Trabalho realizado por Prakob *et al.* (2009), no campo e em casa de vegetação, demonstrou que o uso combinado de duas rizobactérias, (*Pseudomonas aeruginosa* e *B. subtilis*) e um fungo *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson, reduziu o número de galhas e a densidade populacional de *Meloidogyne* spp. Além do mais, aumentou o peso médio da alface quando comparado com a testemunha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALTEN, P. M, *et al.* Effect of rhizosphere fluorescent *Pseudomonas* strains on plant-parasitic nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. **Letters in Applied Microbiology**, v. 2, p. 357-361, 1998.

ABANORTE-ASSOCIAÇÃO CENTRAL DOS FRUTICULTORES DO NORTE DE MINAS. **Produtores de banana querem criar central**. Janaúba, 2008. Disponível em: <<http://www.abanorte.com.br/fruticultura/banana>> Acesso em 14 de novembro de 2010.

AGRIANUAL 2011-**Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Consórcio 2011, p. 195-200.

AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by nematodes. In: _____ **Plant pathology**. 5 ed. Elsevier: Academic Press, 2004. p. 840-841.

ALI, B.; SABRI, A.N.; HASNAIN, S. Rhizobacterial potential to alter auxin content and growth of *Vigna radiata* (L). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1379-1384, 2009.

ARAÚJO, F. F. de.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle de Meloidoginose e na promoção de crescimento de tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 1558-1561, 2009.

ARAÚJO, F. F de.; SILVA, J.F.V.; ARAÚJO, A.S.F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão orientação e infecção de *H. glycines* em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 197-202, 2002.

ARAÚJO, K.S. *et al.* **Promoção do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira por rizobactérias**, 2010 Disponível em: <http://www.cnpmf.Embrapa.br/.../Resumo_Kaliane AS_Harlen SAS_res JR-ED_Pdf> Acesso em 12/01/2010.

ASGHAR, H.N. *et al.* Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 231–237, 2002.

BECKER, J. O. *et al.* Effect of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. **Phytopathology**, v.78, p. 1466-1469, 1988.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, S.; GUCKERTA, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v. 11, p. 557-574, 2001.

BORGES, A.L. *et al.* **O cultivo da banana**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CMPMF, 1997. 109 p. (Circular Técnica, 27).

BORONIN, A.M. *et al.* **Biological control of soilborne plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia**. In: VI INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOL., MONTREAL, CANADA, INT. SOC. PLANT PATH,1993, p. 276 (abstr.).

BLOMME, G. *et al.* Effect of nematodes on root and shoot growth of *in vitro*- propagated and sword sucker-derived plantlets of six *Musa* spp. **Nematology**, v. 6, p. 593-604, 2004.

CARLIER, J.; De WAELE, D.; ESCALANT, J. V. **Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to Fusarium wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes**, 2003. Disponível em:<http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/tg7_en.pdf> Acesso em: 10 de dezembro de 2010.

CARVALHO, D. D. C. *et al.* Rizobactérias produtoras de promotores do crescimento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, p. 338-341, 2009.

CHUNG, Y. R. *et al.* *Paenibacillus koreensis* sp. nov, a new species that produces an iturin-like antifungal compound. **Internacional Journal Systematic Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 1495-1500, 2000.

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

COSTA, D. C. C. *et al.* Avaliação de danos e perdas à bananeira cv. Nanica causadas por *Meloidogyne incognita* na região de Petrolândia-PE. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 21, 1997.

COSTA, D. C. Doenças causadas por nematoides. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana. Fitossanidade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. P. 66-77, 2000.

CURL, E. A. The rhizosphere: Relation to pathogen behavior and root disease. **Plant Disease**, v. 66, p. 624-630, 1982.

DATTA, M.; BANIK, S.; GUPTA, K. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. **Plant and Soil**, v. 69, p. 365-373, 1982.

DE WAELE, D.; DAVIDE, R. G. **The root-Knot Nematodes of Banana *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood 1949, *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949**, n. 3, 1998. Disponível em: http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/pest3_e n.pdf. Acesso em 10 de dezembro de 2010

DIAS, M. S. C... *et al.* Ocorrência de nematoides associados a bananeira na região norte de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 499-500, 2001.

FAO. FAOSTAT. Database results. 2010. Disponível em <<http://www.foa.org.br/>>. Acesso em dezembro de 2010.

FERRAZ, L. *Radopholus similis* em banana no Brasil: Considerações gerais sobre o problema com ênfase aos danos causados a cultura. In: CONGRESSO INTERNACIONAL TROPICAL; CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA., CONGRESSO DA ORGANIZAÇÃO DOS NEMATOLOGISTAS DA AMÉRICA TROPICAL,

27, 1995, Rio Quente. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologistas, 1995, p. 176-185.

FREITAS, L. G. **Rizobactérias versus nematoides**, 2001. Disponível em: < <http://ufv.br/dfp/lab/nematologia/rizo.pdf>>. Acesso em 11 de janeiro de 2010.

FREITAS, L. G.; FERRAZ, S. **O Controle de fitonematoides por plantas atagônistas e produtos naturais**. 2007. Disponível em: < <http://ufv.br/dfp/lab/nematologia/antagonistas.Pdf>>. Acesso em 15 de novembro de 2010.

GONZAGA, V. Nematoides associados a bananeiras na região Norte Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 326, 1997.(suplemento).

GOWEN, S e QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode of banana, plantains and abaca. In: LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIGDE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**, England, Wallingford, CAB Internacional, 1990. p. 431-460.

JONATHAN, E.I. *et al.* Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato and banana with rhizobacteria, Actinomycetes, and *Pasteuria penetrans*. **Nematropica**, v. 30, p. 231-240, 2000.

KARADENIZ, A.; TOPCUOGLU, S.F.; INAN, S. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, p. 1061-1064, 2006.

KERRY, B. R. Rhizosphere interactions and the exploitation of Microbial agents for the biological control of plant- parasitic nematodes. **Anual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 38, p. 423-441, 2000.

KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial control of plant parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 22, p. 621-631, 1990.

KHAN, Z. *et al.* A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppress root-knot nematode. **Bioresource Tecnology**, v. 99, p. 3016-3023, 2008.

KLOEPPER, J. W. *et al.* Pseudomonas siderophoros: a mechanism explaining disease-suppressive soil. **Current Microbiology**, v. 4, p. 317-320, 1980.

KLOEPPER, J. W. *et al.* Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In KEISTER, D.L. e CREGAN, P.B. **The rhizosphere and plant growth**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1990, p. 315-326.

LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **Hort Science**, v. 32, p. 188-192, 1997.

LEBUHN, M.; HEULIN, T.; HARTMANN, A. Production of auxin and other indolic and phenolic compounds by *Paenibacillus polymyxa* strains isolated from different proximity to plant roots. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 22, p. 325-334, 1997.

LIFSHITZ, R.; GUIMETTE, H.; KOZBLOWSKI, M. Tn5 mediated cloning of genetic region from *Pseudomonas putida* involved in the stimulation of plant root elongation. **Applied and Environment Microbiology**, v. 54, p. 3169-3179, 1988.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C. *et al.* (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: RAPP, 1996. p. 1-49.

MELO, I. S.. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas descrição e potencial de uso na agricultura.. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. (Eds). **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, 1998, p. 87-110

MICHENER, H. D e SMELL. Two antifungal substance from *Bacillus subtilis* cultures. **Archives of Biochemistry**, v. 22, p. 208-214, 1949.

NEIPP, P. W.; BECKER, J. O. Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris* against *Heterodera schachtii*. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 54-61, 1999.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R. A. *In vitro* interrelationships Between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. **Review Nematology**, v. 14, p. 269-274, 1990.

PRAKOB, W. *et al.* Biological control of lettuce root-knot disease by the use of *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Paecilomyces lilacinus*. **Journal of Agricultural Technology**, v. 5, p. 179-191, 2009.

POINAR Jr, G. O.; H. JANSSON (eds.). **Diseases of nematodes**. V. I CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988. 149 p.

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

RAZA, W.; YANG, W.; SHEN, Q. R. *Paenibacillus polymyxa* antibiotics, hydrolytic enzymes and hazard assessment. **Journal of Plant Pathology**, v. 90, p. 419-430, 2008.

RITZINGER, C. H. S. P.; COSTA, D. da. C. **Nematoide e alternativa de Manejo**, 2004. Disponível em: <http://www.Agencia.Cnptia.Embrapa.br/.../Livro_Banana_Cap 10 ID-gRfpPx 1siR.pdf>. Acesso em: 11 de janeiro de 2011.

ROCHA, L. S. *et al.* **Efeito de filtrados de Rizobactérias de bananeira sobre a mortalidade de *Meloidogyne javanica*, 2009**. Disponível em: <http://www.fegep.unimontes.br/index.php/fegep/2009/Shed conf/presentations>. Acesso em 20 de janeiro de 2010.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology, the role of society. In: VEECH, J.A e DICKSON, D.W. (Eds) **Vistas on Nematology: A commemoration of the twenty- fifth anniversary of the society of nematologist**. DeLeon Springs Society of Nematologist, 1987, p. 158-165.

SCHIPPERS, B., BAKKER, A.W.; BAKKER, P. A. H. M. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of

cropping practices. **Annual Review of Phytopathology**, v. 25, p. 339-358, 1987.

SIDDIQUI, I. A. *et al.* Suppression of *M. javanica* by *Pseudomonas aeruginosa* IE 6S + in tomato the influence of NaCl, oxygen and iron levels. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, p. 1625-1634, 2003.

SIDDIQUI, S.; EHETSHAMUL-HAQUE, S.; SHAUKAT, S. S. Use of rhizobacteria in the control of root rot-root knot disease complex of mungbean. **Journal of Phytopathology**, v. 149, p. 3337. 2001.

SIDDIQUI, Z. A; BAGHEL, G; AKHTAR, M. S. Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Rhizobium* and plant growth-promoting rhizobacteria on lentil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 435-441, 2006.

SIDDIQUI, Z. A e MAHMOOD, I. Role of plant symbionts in nematode management. A review. **Bioresource Tecnology**, v. 54, p. 217-226, 1995.

SHIDA, O. *et al.* Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus chondroitinus*, *Bacillus curdlanolyticus*, *Bacillus glucanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus *Paenibacillus* and emended description of the genus *Paenibacillus*. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 47, p. 289-298, 1997.

SILVA, S. O. *et al.* Banana breeding programa at Embrapa. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, p. 399-436.2001.

SMITH, M. *et al.* In: **Tissue Culture: Towards the next century**. Arinidale, NSW: University of England, 1997, p. 133-140.

SOUTO, R. F. *et al.* Novas perspectivas em sistemas de implantação, condução e práticas de manejo da bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, p. 10-15, jan./fev., 1999.

TIMMUSK, S. *et al.* Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. **Soil Biology Biochemistry**, v. 31, p. 1847-1852, 1999.

VILAS BOAS, L.C. *et al.* Reação de clones de bananeira (*Musa* spp) ao nematoide *Meloidigyne* incognita (Kofoid & White, 1991) Chitwood, 1949, Raça 2. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 690-693, 2002.

WELLER, D. M.; THOMASHOW, L. S. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere. In: O'GARA, F.; DOWLING, D. N.; BOESTEN, B. (Ed.). **Molecular ecology of rhizosphere microorganisms**. New York: VCH, 1994. cap 1, p. 1-18.

ZEM, A. C. ; ALVES, E. J.. **Observações sobre perdas provocadas por nematóides em bananeira (*Musa acuminata* Simm. e Sherp.) cv. Nanicão**. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 1981. 10 p. (Boletim de Pesquisa, n 6)

ZEM, A. C.; BARREIRA, J. G.; TEIXEIRA, L. S. **Nematoides associados a bananeiras do estado do Ceará**, 1980. Disponível em: <http://docentes.esalq.usp.br/sbn/nbonline/ol%2004u/119-126%20pb.pdf>. Acesso em: 10 de dezembro de 2010.

ZEM, A. C.; VENTURA, J. A; NOBREGA, A. C. Nematoides associados a diferentes cultivares de bananeira em Viana, ES. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v. 28, p. 11-22, 1984.

CAPÍTULO I

TRATAMENTO DE EXPLANTES DE BANANEIRA ‘PRATA-ANÃ’ COM RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

RESUMO

LOPES, Pollyanna Santiago. **Tratamento de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ com rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de plantas.** 2011. Cap. 1, p. 21-59 Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido)- Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG¹

Os objetivos deste trabalho foram avaliar *in vitro* a colonização de raízes e de rizoma e o desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ obtidas após tratamento de explantes com rizobactérias. Em casa de vegetação objetivou-se avaliar o efeito do tratamento dos explantes com as rizobactérias no controle de *M. javanica* e no desenvolvimento de plantas. Para o tratamento dos explantes as rizobactérias foram repicadas para erlenmeyers contendo TSB e permaneceram por 48 horas sob agitação de 150 rpm a 28 °C. Em seguida as suspensões foram centrifugadas a 10.000 rpm, o sobrenadante descartado e as células bacterianas ressuspensas em solução salina (NaCl 0,85%). No ensaio *in vitro*, foram avaliados dez isolados de rizobactérias, na concentração OD₅₄₀=0,5 e a testemunha constou de explantes tratados com solução salina. Foram empregadas oito repetições. Os explantes foram colocados em tubo de ensaio contendo meio MS solidificado com Phytigel. Após 30 dias avaliou-se a colonização de raízes e rizoma, o desenvolvimento de mudas e o efeito da suspensão obtida de raízes sobre a morte de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*. No ensaio em casa de vegetação, os explantes foram tratados com os mesmos isolados bacterianos colocados em tubos de ensaio com meio MS, carvão ativado e auxina. Após 30 dias as mudas foram aclimatizadas e em seguida foram plantadas em vasos contendo solo e areia previamente autoclavados. O ensaio foi montado em DBC no esquema fatorial 2 (com e sem nematoide) x (quatro isolados de rizobactérias) com oito repetições. A testemunha constou de mudas obtidas de explantes tratados com NaCl. Após vinte quatro horas infestou-se o solo ao redor das mudas com suspensão contendo 3.000 ovos. O ensaio foi conduzido por 60 dias quando avaliaram-se o número de galhas, o número de massas de ovos, o número de ovos por sistema radicular, o número de J2 de *M. javanica* por 100 cm³ de solo e calculou-se o fator de reprodução. Avaliaram-se ainda, altura das plantas, diâmetro do pseudocaule, número de folhas, peso de matéria fresca da raiz, peso de matéria seca da raiz, peso de matéria fresca de parte aérea e peso de matéria

¹Comitê de Orientação; Prof^ª Regina Cássia Ferreira Ribeiro- DCA/UNIMONTES (Orientadora); Prof^ª Adélica Aparecida Xavier- DCA/UNIMONTES (Coorientadora); Prof^ª Márcia Regina Costa-DCA/UNIMONTES; Prof^º Edson Hiydu Mizobutsi-DCA/UNIMONTES; Prof^º Fernando da Silva Rocha- ICA/UFMG.

seca de parte aérea. Nenhuma das bactérias colonizou as raízes de bananeira 'Prata-Anã' *in vitro*. As bactérias *Bacillus pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 e *Bacillus* sp.-36 apresentaram colonização da região do rizoma das raízes de mudas, promoveram o desenvolvimento de explantes e apresentaram mortalidade de J2 de *M. javanica*. A microbiolização de explantes de bananeira com *B. pumilus*-76 promoveu aumento do peso de matéria seca de parte aérea. A microbiolização de explantes com *B. pumilus*-1, *B. pumilus*-3 e 76 foram eficientes no controle de *M. javanica* de mudas de bananeira 'Prata-Anã'.

Palavras chave: *Musa* sp., *Bacillus* spp. *Paenibacillus* sp., suspensões bacterianas, nematoides de galhas

ABSTRACT

LOPES, Pollyanna Santiago. **Treatment of explantlets of 'Prata-Anã' banana with rhizobacteria in the control of *Meloidogyne javanica* and plantlets growth.** 2011.21-59 p. Dissertation (Master's degree in Plant Production in the Semiarid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.¹

This work aimed to evaluate *in vitro* roots colonization and rhizome and the development of 'Prata-Anã' banana plantlets gotten after treatment of explants with rhizobacteria. In greenhouse it was aimed to evaluate the effect of the treatment of explants with rhizobacteria in the control of *M. javanica* and in the development of plantlets. For the treatment of explants, the rhizobacteria were sectioned for erlenmeyers containing TSB and remained for 48 hours under agitation of 150 rpm at 28 °C. After that, the suspensions were centrifuged to 10,000 rpm, the supernatant was discarded and the bacterial cells resuspended in saline solution (NaCl 0.85%). In the *in vitro* assay, were evaluated ten isolates rhizobacteri, in the concentration $OD_{540}=0,5$ and the control consisted of explants treated with saline solution. Eight repetitions were used. The explants were placed in test tubes containing medium MS solidified with Phytigel. After 30 days, it was evaluated colonization of roots and rhizome, the development of plantlets and the effect of the suspension gotten from roots on the death of second stage juveniles (J2) of *M. javanica*. In the assay in greenhouse, the explants were treated with same bacteria isolates placed in test tubes of with medium MS, activated coal and auxin. After 30 days the plantlets were acclimatized and after that they were grown in pots containing soil and sand previously autoclaved. The assay was carried out in RBD in a factorial scheme 2 (with and without nematode) x (four isolates of rhizobacteria) with eight repetitions. The control consisted of plantlets from explants treated with NaCl. After twenty four hours the soil around the plantlets were infested with suspension containing 3,000 eggs. The assay lasted 60 days when number of root-knot, number of egg masses, number of egg for root, number of J2 de *M. javanica* for 100 cm³ of soil were evaluated and calculated the reproduction factor. They were also evaluated plantlets height, pseudostem

Guidance Committee: Regina Cássia Ferreira Ribeiro- DCA/UNIMONTES (Adviser); Adelica Aparecida Xavier- ASD/UNIMONTES (Co-adviser); Márcia Regina Costa- ASD/UNIMONTES; Edson Hiydu Mizobutsi- ASD/UNIMONTES; Fernando da Silva Rocha- ASI/UFGM.

diameter, leaf number, weight of root fresh matter, weight of root dry matter, weight of shoot fresh matter and weight of shoot dry matter. None of the bacteria colonized the roots of 'Prata-Anã' banana *in vitro*. The bacteria *Bacillus pumilus*-1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 and *Bacillus* sp.-36 presented colonization of rhizome region of roots of the plantlets, provide the development of explants and presented mortality of J2 de *M. javanica*. The microbiolization of explants of banana tree with *B. pumilus*-76 increased the weight of shoot dry matter. The microbiolization of explants with *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3 and 76 were efficient in the control of *M. javanica* of 'Prata-Anã' Banana plantlets.

Key-words: *Musa* sp., *Bacillus* spp. *Paenibacillus* sp., Bacterial suspensions, root-knot nematodes.

1 INTRODUÇÃO

A bananeira é uma cultura que apresenta vários problemas durante o seu ciclo. Dentre esses se destacam os fitossanitários, principalmente o ataque de fitonematoides que causam grandes perdas na produção e qualidade dos frutos. O seu controle é muito difícil e oneroso. Mudas infectadas constituem o principal agente de disseminação desse patógeno.

Uma medida preventiva no controle é o uso de mudas micropropagadas, por ser uma alternativa viável para a produção massal de material propagativo sadio, de alta qualidade e uniformidade. Entretanto, essas mudas têm maior sensibilidade a patógenos e a fatores abióticos quando levadas para o campo (NOWAK, 1998; NOWAK, *et al.*, 1998), visto que durante o processo de introdução e multiplicação das mudas vários organismos benéficos são eliminados.

Esses problemas podem ser minimizados pela introdução de microorganismos benéficos durante a obtenção de mudas ainda no laboratório. Essas bactérias, além de promoverem o crescimento das plantas, atuam na bioproteção .

As rizobactérias têm a rizosfera e o rizoplano das plantas como sítios preferenciais para multiplicação e sobrevivência. A interação entre as bactérias e as raízes de plantas pode ser benéfica, prejudicial ou neutra (SCHIPPERS *et al.*, 1987). As que desempenham efeitos benéficos, por promoverem o crescimento das plantas e/ ou protegê-las contra fitopatógenos, são nomeadas de PGPR- Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (KLOEPPER *et al.*, 1990). Essas bactérias não estão distribuídas aleatoriamente na rizosfera, mas sim agregadas, principalmente, nas áreas de ativa exsudação (BOWEN e RIVORA, 1976; BOWEN e FOSTER, 1978). A colonização inicial das raízes é mínima, mas, após alguns dias microcolônias, aparecem em toda extensão das raízes (STIRLING, 1991).

A maioria das rizobactérias pertence aos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, mas também são relatados outros gêneros como *Azotobacter*, *Azospirillum* (Tarrand *et al.*, 1979), *Acetobacter* (Beijerinck, 1898) e *Burkholderia* (Yabuuchi *et al.*, 1993) (BROWN, 1974; ELMERICH, 1984; KLOEPPER *et al.*, 1988; GLICK, 1995). As PGPRs apresentam vários mecanismos de ação como produção de hormônios de crescimento, produção de sideróforos e de antibióticos, sendo que mais de um mecanismo pode ser utilizado por uma rizobactéria (KLOEPPER 1993; BORANIN *et al.*, 1993; MELO, 1998). Essas bactérias apresentam vantagem sobre outros microorganismos pelo fato de serem encontradas em grande abundância no solo (WELLER, 1988).

O efeito benéfico dessas bactérias tem sido mostrado na micropropagação de tomateiro, de batata, de melancia e de pepineiro. As bactérias promotoras de crescimento de plantas podem atuar tanto na fase de cultivo *in vitro* quanto na fase de aclimação proporcionando maior vigor e adaptação das mudas após o transplante (NOWAK, 1998).

É importante salientar que para que ocorram todos esses benefícios proporcionados pelas rizobactérias, e para serem consideradas verdadeiras PGPRs, estas devem colonizar o sistema radicular das plantas com as quais estabelecem uma associação (SILVA *et al.*, 2003). Além disso, segundo Weller (1988), para que uma rizobactéria seja colonizadora eficiente, ela, quando introduzida, deve ser capaz de se espalhar ao longo da raiz em condições naturais de solo, multiplicar-se e sobreviver por diversas semanas na presença de competição com a microbiota nativa.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram: avaliar *in vitro* a colonização de raízes de bananeira ‘Prata-Anã’ com rizobactérias; avaliar o desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ obtidas a partir do tratamento de explantes com rizobactérias; avaliar a ação das rizobactérias nas raízes sobre a mortalidade de juvenis de *M. javanica* e em casa de vegetação; avaliar o controle de *M. javanica* e o desenvolvimento

de mudas de bananeira 'Prata-Anã' a partir de explantes tratados com rizobactérias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratório de Fitopatologia e Biotecnologia da UNIMONTES, *Campus* Janaúba.

2.1 Obtenção de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’

Rizomas de bananeira ‘Prata-Anã’ foram retirados do bananal da fazenda Santana, no município de Nova Porteirinha. Esses foram cortados utilizando o facão extraíndo-se parte das bainhas foliares e do próprio rizoma, de modo que o explante contendo o meristema apical apresentasse dez centímetros de comprimento e três centímetros de diâmetro. Após realizada esta primeira limpeza mecânica, os explantes foram acondicionados em água deionizada e conduzidos ao Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual de Montes Claros-UNIMONTES.

No laboratório, foi efetuada a segunda limpeza mecânica com bisturi, reduzindo-se os explantes a cinco centímetros de comprimento, os quais foram submetidos à desinfestação em solução de estreptomicina 0,3 g.L⁻¹ por 20 minutos, Derosal[®] a 0,6% p.a por 20 minutos e em álcool comercial a 92,8% por 60 segundos. A imersão nas soluções para desinfestação foi intercalada por lavagem em água estéril deionizada.

Posteriormente, esses explantes foram submetidos à agitação por 25 minutos em hipoclorito de sódio 2% p.v, onde se adicionaram duas gotas de Tween 20. Após esse período, os explantes foram conduzidos à câmara de fluxo laminar e lavados três vezes em água deionizada autoclavada, reservando-os na quarta água.

Na câmara de fluxo laminar, realizou-se a terceira limpeza mecânica com pinça e bisturi, deixando os explantes com três centímetros de comprimento. Nesta fase de estabilização dos explantes, estes foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 3 mg.L⁻¹ de 6-Benzilaminopurina,

2,5 g.L⁻¹ de carvão ativado, 10 mg.L⁻¹ de vitaminas do White, 0,1 g.L⁻¹ de Mio inositol e 7 g L⁻¹ de Ágar.

Após a introdução, os explantes foram mantidos no escuro por sete dias e ao final deste período foram transferidos para sala de cultivo com lâmpadas fluorescentes do tipo super luz do dia de 40 Watts, intensidade luminosa de 25 W.m⁻², temperatura de 25 ± 3 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz e oito de escuro. Após 21 dias, iniciou-se a fase de multiplicação dos explantes. Os cinco subcultivos sucessivos da fase de multiplicação foram realizados em frascos de dez centímetros de altura e seis centímetros de diâmetro em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 3 mg.L⁻¹ de 6-Benzilaminopurina, 10 mg.L⁻¹ de vitaminas do White, 0,1 g.L⁻¹ de Mio inositol e 7 g L⁻¹ de Ágar. Trinta dias depois do último subcultivo (sexto), os explantes foram retirados dos frascos contendo meio de cultura e lavados em água deionizada para extração de resíduos. Em seguida, estes explantes foram acondicionados em bandeja plástica contendo água deionizada e fechada com filme de PVC, até a montagem do experimento.

2.2 Multiplicação e obtenção do inóculo e juvenis de *Meloidogyne javanica*

Mudas de tomateiro cv. Kada, cultivadas em casa de vegetação, foram obtidas a partir da sementeira em bandejas de isopor contendo o substrato Plantmax[®]. Aos 20 dias foram transplantadas para vasos de 1,5 litro de capacidade contendo substrato composto por solo:areia: (2:1) previamente autoclavado. Em seguida, adicionou-se em três orifícios ao redor da plântula uma suspensão contendo 3.000 ovos de *M. javanica* obtida a partir de tomateiros cv Kada infectados por *M. javanica* (mantidos em casa de vegetação por 60 dias). Sessenta dias após a infestação do solo, foi realizada a extração de ovos das raízes. Para isto, as raízes com sintomas de galhas foram colhidas, lavadas e picadas em pedaços de aproximadamente

um centímetro e, em seguida, transferidas para o liquidificador. Posteriormente, adicionou-se solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% e as raízes foram trituradas por 20 segundos na menor velocidade. A suspensão obtida foi vertida nas peneiras sobrepostas de 0,850 mm, 0,250 mm e 0,025 mm. Os ovos retidos nesta última peneira foram recolhidos com auxílio de jatos de água por meio de uma pisseta e recolhidos em bquer (HUSSEY e BARKER, 1973 modificada por BONETTI e FERRAZ, 1981).

A suspensão contendo os ovos foi quantificada e calibrada em câmaras de Peters para 1000 ovos/mL em microscópio de objetiva invertida. Para a obtenção de juvenis, a suspensão de ovos foi transferida para câmaras de eclosão. Permaneceram por 48 horas em câmara de incubação a 25 °C. Após esse período, as placas foram levadas para microscópio de objetiva invertida para contagem do número de juvenis de segundo estágio de *M. javanica*, e a suspensão foi calibrada para 2000 J2/mL.

2.3 Multiplicação de rizobactérias

Foram utilizados dez isolados de rizobactérias provenientes de rizosfera de bananeira ‘Prata-Anã’ de municípios do Norte de Minas Gerais (TABELA 1). Esses isolados proporcionaram redução do número de galhas e alta mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. javanica in vitro* em ensaios anteriores. A identificação dos gêneros e espécies foi realizada pelo teste de perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa no laboratório da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/CNPMA) descrito por Sanhueza e Melo (2007). A identificação foi feita por meio de *Software* e identificação microbiana (MIDI, biblioteca Sherlock® TSBA versão 5.0, Microbial ID, Newark, DE, USA).

TABELA 1. Origem de isolados de rizobactérias de bananeira Prata-Anã provenientes de diferentes municípios do Norte de Minas Gerais.

Isolados	Origem
<i>Bacillus pumilus</i> -1	Jaíba
<i>Bacillus pumilus</i> -3	Jaíba
<i>Bacillus pumilus</i> -10	Jaíba
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	Matias Cardoso
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	Matias Cardoso
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	Nova Porteirinha
<i>Bacillus. sp</i> - 36	Nova Porteirinha
<i>Bacillus pumilus</i> -60	Janaúba
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	Nova Porteirinha
<i>Bacillus pumilus</i> -76	Nova Porteirinha

As bactérias mantidas em meio TSA (Trypic-Soy-Agar) a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (LUCON e MELO, 1999; MARIANO *et al.*, 2000) foram repicadas para placas de Petri contendo meio TSA e incubadas a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. A seguir, em câmara de fluxo laminar, foram repicadas com alça de platina, para erlenmeyers contendo 100 mL de meio “Trypic Soy Broth” (TSB). Estes foram levados para agitador orbital “shaker” onde permaneceram por 48 horas a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação constante a 150 rpm. Após este período, as culturas foram centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, foi adicionada solução salina (NaCl 0,85%) sobre células bacterianas retidas no fundo de cada tubo e a suspensão obtida calibrada em espectrofotômetro para $\text{OD}_{540} = 0,5$ de absorbância.

2.4 Avaliação *in vitro* da colonização das raízes a partir de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ tratados com rizobactérias

Explantos de bananeira ‘Prata-Anã’ na sexta repicagem foram imersos em suspensão de células bacterianas com concentração ajustada em espectrofotômetro para $\text{OD}_{540} = 0,5$ de absorbância por 15 minutos sob

agitação constante a 200 rpm. Em seguida, os explantes foram colocados sobre papel de filtro previamente autoclavado, para eliminar o excesso de umidade e depois transferidos para tubos de ensaio contendo meio nutritivo MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com 30 g/L de sacarose, 0,05 mg L⁻¹ de ANA (Ácido Naftaleno Acético) e solidificado com PhytigelTM. Foram avaliados dez isolados: (*B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24, *B. subtilis*- 34, *Bacillus* sp.-36, *B. pumilus*-60, *P. lentimorbus*-69, *B. pumilus*-76). Os tubos contendo os explantes foram armazenados em temperatura de 25 ± 3 °C, fotoperíodo de dias longos (16 horas luz e 8 horas de escuro) e intensidade luminosa de 25 W.m⁻². Utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com oito repetições. A testemunha constou de explante imerso em solução salina (NaCl 0,85%) por 15 minutos, sob agitação constante a 200 rpm. Após 30 dias do desenvolvimento das raízes, avaliou-se a colonização das raízes, a colonização do rizoma, o comprimento da raiz e da parte aérea (medida a partir da região do colo da planta até o lançamento da última folha) e o peso seco de parte aérea (a parte aérea foi cortada na altura do colo da planta e seca em estufa sob ventilação forçada a 65 °C por 72 horas e posteriormente pesada em balança de precisão).

A observação da colonização radicular e do rizoma foi realizada visualmente, de acordo com o método de Silva *et al.* (2003). Considerou-se que a presença de um halo esbranquiçado ao longo e em volta da raiz ou em volta do rizoma da planta indicava a colonização dos órgãos pelas bactérias. Para o registro desses resultados, considerou-se, como positivo, a colonização dos órgãos em sete ou oito dos tubos de ensaio e, como negativo, a ausência de colonização dos órgãos em sete ou oito dos tubos.

Para a confirmação da presença das rizobactérias nas raízes ou da alteração dos exsudatos das raízes pelas mesmas, foi realizado o teste de mortalidade com os filtrados das raízes tratadas com as rizobactérias. Para isso, as raízes dos explantes foram cuidadosamente retiradas do tubo de ensaio e picadas em tamanhos de aproximadamente dois centímetros. As

raízes de explantes de cada repetição do ensaio de colonização constaram como uma repetição no presente ensaio, totalizando oito repetições. Após a obtenção dos fragmentos de raízes, estes foram transferidos para os tubos de ensaio contendo 5 mL de solução salina (NaCl 0,85%) e posteriormente foram agitados por cinco minutos em agitador de tubo. Depois desse processo, essa suspensão foi filtrada em gase previamente autoclavada e transferida para a placa de poliestireno utilizada para teste sorológico.

Foram avaliados os filtrados das rizobactérias: *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *Bacillus* sp.-36. As testemunhas constaram de filtrados de raízes tratadas com solução salina (NaCl 0,85%) e água destilada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições.

O ensaio foi montado em placas de poliestireno utilizadas para teste de ELISA, sendo que cada célula constituiu uma parcela experimental. Em cada célula, foram adicionados 100 µL de suspensão de juvenis de segundo estágio contendo 20 juvenis por cavidade e 100 µL de suspensão bacteriana obtida da agitação das raízes em solução salina. Em seguida, a placa foi vedada com filme de PVC transparente e acondicionada em câmara de incubação a 25 °C no escuro. Ao final de vinte quatro horas, os J2 mortos foram contados em microscópio de objetiva invertida. Para confirmar se os J2 estavam realmente mortos, foi adicionada em cada célula da placa uma gota de hidróxido de sódio (NaOH) 1N. Os J2 que permaneceram com o corpo distendido foram contabilizados como mortos (CHEN e DICKSON, 2000).

Os dados foram submetidos à análise de variância, pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.5 Efeito do tratamento de explantes de bananeira sobre o controle de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas

Explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ obtidos conforme o item 2.1. foram levados para o laboratório de Fitopatologia, onde realizaram os tratamentos destes em suspensões bacterianas por 15 minutos, conforme o experimento *in vitro* descrito no item anterior. Foram avaliadas as rizobactérias (*B. pumilus*-1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24, *B. subtilis*-34, *Bacillus* sp.-36, *B. pumilus*-60, *P. lentimorbus*-69, *B. pumilus*-76). Em seguida estes explantes foram colocados em tubos de ensaio contendo meio MS (MURASIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 0,05 mg. L⁻¹ de ANA, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 7 g.L⁻¹ de ágar e 2,5 g.L⁻¹ de carvão ativado. Depois esses tubos foram levados para o laboratório de Biotecnologia onde permaneceram por 30 dias na sala de cultivo com lâmpadas fluorescentes do tipo super luz do dia de 40 Watts, intensidade luminosa de 25 W.m⁻², temperatura de 25± 3 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz e oito no escuro.

Trinta dias após o último subcultivo (sexto), quando essas mudas estavam completamente enraizadas, com três folhas lançadas e, no mínimo, cinco centímetros, foram retiradas dos tubos de ensaio contendo meio de cultura e transferidas para tubetes contendo substrato Plantmax[®] onde permaneceram por 30 dias. Após a fase de aclimatização, foram transplantadas para vasos plásticos de 3 L de capacidade contendo substrato composto de solo:areia (2:1) autoclavado por três dias consecutivos. Após vinte quatro horas, foi adicionada uma suspensão de 5 mL contendo 3000 ovos de *M. javanica* em três orifícios no solo ao redor da muda. O ensaio foi montado em casa de vegetação em delineamento em blocos ao acaso no esquema fatorial: 2 (com e sem nematóide) x 4 (quatro isolados de rizobactérias) com oito repetições. A testemunha constou de explantes não tratados com rizobactérias, apenas com NaCl (0,85%). A irrigação das plantas foi feita manualmente, conforme a necessidade hídrica.

Após 60 dias, foram avaliadas as variáveis: número de folhas, diâmetro do pseudocaule (com auxílio do paquímetro), peso da matéria fresca e seca da parte aérea (pseudocaule + folhas), peso de matéria fresca do sistema radicular, altura das plantas (medida do colo da planta até o lançamento da última folha). Para avaliar a matéria seca, a parte aérea foi cortada na altura do colo da planta, seca em estufa sob ventilação forçada a 65 °C por 72 horas e, em seguida, pesada em balança analítica.

Para as avaliações nematológicas, o sistema radicular foi removido cuidadosamente do solo e lavado em água parada contida em um balde de 10 litros. A seguir, as massas de ovos dos nematoides nos sistemas radiculares foram coradas com floxina B (TAYLOR e SASSER, 1978). Após a coloração, as raízes foram deixadas sobre papel-toalha por dez minutos, possibilitando, assim, a avaliação do peso da matéria fresca das raízes, seguida da contagem de massas de ovos e de galhas por sistema radicular. Para a quantificação do número de ovos por sistema radicular, as raízes foram lavadas e picadas em pedaços de aproximadamente um centímetro e em seguida transferidas para o liquidificador onde foi adicionada solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% e trituradas por 20 segundos. Essa suspensão foi vertida nas peneiras sobrepostas de 0,850 mm; 0,250 mm e 0,025 mm. Os ovos retidos na peneira de 0,025 mm foram recolhidos com jatos de água com auxílio de pisseta de acordo com a técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz, (1981). Em microscópio de objetiva invertida foram contados os ovos de *M. javanica* por sistema radicular.

O número de juvenis de segundo estágio (J2) por 100 cm³ de solo foi avaliado após extração do solo por meio da técnica de Jenkins (1964). Foi realizada a homogeneização das amostras de solo, de onde se retirou uma alíquota de 100 cm³. Posteriormente, o solo e a água foram homogeneizados manualmente por 10 segundos, para desagregar os torrões do solo e facilitar a suspensão dos J2. Após 20 segundos de decantação, o líquido foi vertido sobre conjunto de peneiras de 0,850 mm, 0,250 mm e 0,045 mm de diâmetro

de abertura. Os nematoides retidos à última peneira foram recolhidos utilizando pisseta com água. A suspensão obtida foi centrifugada a 1750 rpm por cinco minutos. Após a centrifugação, eliminou-se o líquido sobrenadante e adicionou-se solução de sacarose (400g de açúcar refinado dissolvidos em 750 mL de água). Homogeneizou-se o sobrenadante e submeteu à centrifugação por um minuto a 1750 rpm. O sobrenadante foi vertido em uma peneira de 0,025 mm e, utilizando a pisseta, foram recolhidos 20 mL da suspensão em que se realizou a contagem em câmara de Peters em microscópio ótico. O fator de reprodução (FR) foi obtido por meio da fórmula $FR = Pf/Pi$, onde Pf é o número de ovos aos 60 dias e Pi o número de ovos utilizado na infestação do solo.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2 Avaliação *in vitro* da colonização das raízes de mudas pelos isolados de rizobactérias

Nenhuma das rizobactérias avaliadas colonizou as raízes como mostra a Figura 1A com explantes tratados com solução salina (TABELA 2). No entanto, os isolados- *Bacillus pumilus*-1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 e *Bacillus* sp- 36 colonizaram a região do rizoma das mudas (TABELA 2, FIGURA 1B). Os demais isolados impediram o enraizamento dos explantes, causaram necrose do rizoma e pseudocaule e, conseqüentemente, a morte das plantas (TABELA 2, FIGURA 1C).

TABELA 2. Ocorrência de colonização no sistema radicular (CSR), na região do rizoma (CRR) e morte (M) de raízes de bananeira ‘Prata-Anã’ *in vitro*, imersas em suspensões de células bacterianas.

Isolados	Colonização		
	CSR	CRR	M
<i>Bacillus pumilus</i> -1	-	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> -3	-	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> -10	-	+	-
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	-	-	+
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -24	-	-	+
<i>Bacillus subtilis</i> -34	-	-	+
<i>Bacillus sp.</i> -36	-	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> -60	-	-	+
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	-	-	+
<i>Bacillus pumilus</i> -76	-	-	+
Testemunha	-	-	-

+ = Colonização em explantes em oito tubos de ensaio.

- = Ausência de colonização em oito tubos de ensaio.

+ = Morte de explantes.

- = Explantes vivos.

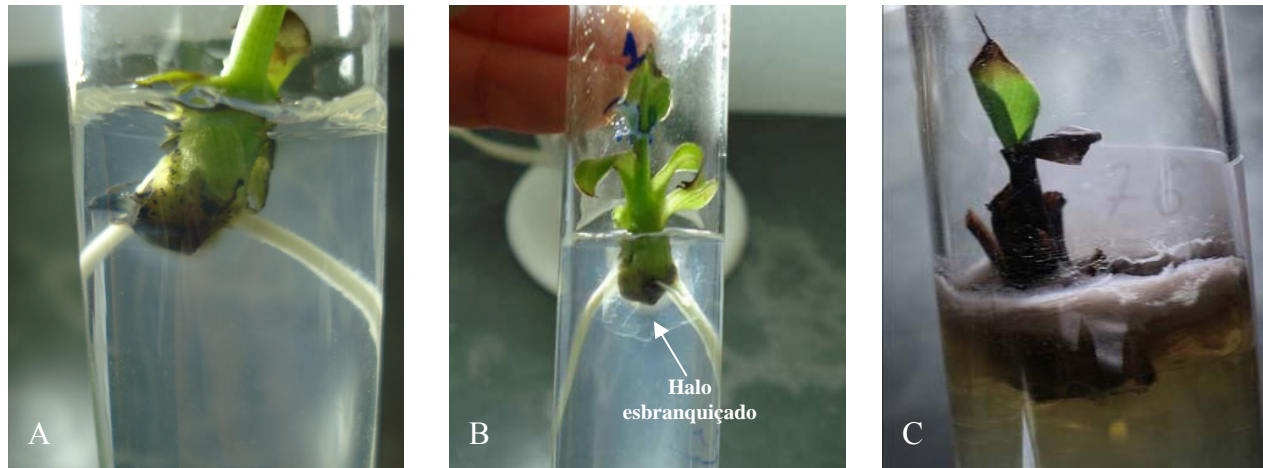


FIGURA 1. Ausência de colonização de rizoma e raízes em explante tratado apenas com solução salina (A); colonização de rizoma pelo isolado *B. pumilus*-1 (B); necrose de rizoma e pseudocaule de explante tratado com *B. pumilus*-76 (C).

Na seleção de rizobactérias para a promoção de desenvolvimento de plantas e biocontrole, um dos testes realizados é a colonização de raízes *in vitro*. Vários trabalhos têm demonstrado que rizobactérias colonizam as raízes quando as sementes são tratadas (HABE e UESUGI, 2000; SILVA *et al.*, 2003). Todavia, em trabalho realizado por Soterro *et al.* (2006), verificou-se que, dos 64 isolados de *Pseudomonas* spp. usados no tratamento de sementes de alface, apenas oito colonizaram as raízes e 38 colonizaram a região do colo de plantas. Destes, 11 isolados proporcionaram aumento de matéria seca, indicando que a colonização parcial do sistema radicular pode ser indicadora da capacidade das bactérias em colonizarem o colo da plântula.

Neste trabalho, a presença das bactérias no rizoma e não nas raízes pode ser explicado pela presença de fonte de carbono adicionado ao meio de cultura. Segundo Habe e Uesugi (2000), para selecionar rizobactérias colonizadoras das raízes, é necessário fazer o teste em meio sem fonte de carbono para que as bactérias possam ser quimiotaticamente atraídas pelos exsudatos radiculares. A concentração de bactérias na região próxima ao colo da planta, mas sem nenhuma colonização ao longo das raízes, pode indicar um isolado bacteriano que, por ter maiores necessidades de O₂, desloca-se para a superfície em busca de O₂, resultando em falha na colonização geral das raízes (UESUGI, 2003 citado por SOTERRO *et al.*, 2006).

A morte de plântulas pelos isolados *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24, *P. lentimorbus*-69, *B. pumilus*- 60, *B. subtilis*-34 e *Bacillus* sp.- 34 pode ter ocorrido em função de uma maior concentração de hormônios de crescimento como auxina ou de outras substâncias químicas detrimenais ao desenvolvimento do explante. A auxina está presente endogenamente nos explantes e no meio de cultura para estimular o enraizamento. Além disso, *Bacillus* e *Paenibacillus* são produtores de auxinas (ARAÚJO *et al.*, 2005; MOTA *et al.*, 2008). Patten e Glick (1996) sugerem que a entrada adicional de AIA microbiano pode modificar a auxina

endógena para nível ótimo ou acima do ótimo, resultando na indução ou inibição de crescimento. Também, segundo Cid (2001), altas doses de hormônios sintéticos produzem efeito fitotóxico ou ainda inibem a fotossíntese. Morte de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ e ‘Prata-Comum’ também foi observada por Araújo *et al.* (2010) quando realizaram microbiolização de explantes em suspensões bacterianas de rizobactérias.

Com relação às variáveis de desenvolvimento das mudas, verificou-se, por meio de análise de variância, efeito significativo ($P < 0,01$) dos isolados para a altura de mudas e peso de matéria seca da parte aérea. Tal efeito não foi observado para o comprimento de raiz.

Observa-se que as bactérias *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 e *B. pumilus*-36 proporcionaram aumento da altura de plântulas, quando comparadas com a testemunha (TABELA 3). Para a variável matéria seca da parte aérea, todas as bactérias proporcionaram incremento de peso de 49,82% a 63,14%, em relação à testemunha (TABELA 3). Provavelmente, esses resultados podem ser explicados pela produção de hormônios, já que vários autores relatam que *B. pumilus* produz auxinas e giberelinas (JOO *et al.*, 2004; Ali *et al.*, 2009). Trabalho realizado por Frommel *et al.* (1991) também apresentou resultados positivos no crescimento *in vitro* de explantes nodais de batata, bacterizados com isolados de *Pseudomonas* sp. por dez segundos. Esses autores verificaram aumento significativo do número de raízes, peso da matéria seca das raízes, peso da matéria seca total e comprimento do caule.

TABELA 3. Médias das variáveis altura, comprimento da raiz (CR) e peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de plântulas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensões de células de diferentes isolados de rizobactérias, após um mês de cultivo sob condições *in vitro*.

Isolados	Altura(cm)	CR (cm)	PMSPA (mg)
<i>Bacillus pumilus</i> -1	5,25 ab	7,50 b	14,21 a
<i>Bacillus pumilus</i> -3	5,50 bc	7,87 ab	17,11 a
<i>Bacillus pumilus</i> -10	6,50 bc	8,12 ab	15,60 a
<i>Bacillus pumilus</i> -36	6,68c	9,25 a	19,33 a
Testemunha	4,06 a	8,18 ab	7,13 b
CV(%)	8,21	6,38	11,96

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Houve efeito significativo dos isolados testados em relação às testemunhas sobre a mortalidade de J2 de *M. javanica* ($P < 0,01$). Neste trabalho, constatou-se que as bactérias *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 e *Bacillus* sp- 36 proporcionaram mortalidade superior de J2 de *M. javanica* de 99,21%, 98,86%, 99,26% e 100%, respectivamente quando comparadas com as testemunhas (NaCl e Água) (TABELA 4).

TABELA 4. Efeito de diferentes filtrados de raízes produzidos por explantes tratados com diferentes rizobactérias sobre a mortalidade de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*.

Isolados	Mortalidade (%)
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	99,21 a
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	98,86 a
<i>Bacillus pumilus</i> -10	99,26 a
<i>Bacillus</i> sp.- 36	100,00 a
Água	0,00 b
NaCl	0,00 b
CV(%)	2,72

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A alta porcentagem de mortalidade de J2 de *M. javanica* demonstra que as bactérias estavam presentes nas raízes e podem ter produzido metabólitos tóxicos detrimenais ao nematóide ou podem ter alterado os exsudatos tornando-os tóxicos aos J2 de *M. javanica*. De acordo com Sikora e Hoffmann-Hergarten (1993), as rizobactérias produzem metabólitos e degradam os exudatos radiculares.

Araújo *et al.* (2002) observaram que *B. subtilis* inibiu a eclosão e a migração de juvenis de segundo estágio de *Heterodera glycines*. Redução da eclosão e aumento da mortalidade de J2 de *Meloidogyne javanica* foi reportado por Dawar *et al.* (2008) utilizando vários isolados de *Bacillus* sp.

Dez isolados de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) foram testados no controle de *M. javanica in vitro*. Todos eles reduziram a eclosão e proporcionaram aumento da mortalidade de J2, quando comparados com o controle (KHAN *et al.*, 2010). Em pesquisa *in vitro* realizada por Oliveira *et al.* (2007), verificou-se que *B. pumilus* (58-15),(83-18), (84-20), *B. thuringiensis* (57-25), *E. asburiae* (Brenner *et al.*, 1988) (62-04) e *P. macerans* (Schardinger, 1905) (62-12) apresentaram mortalidade superior de J2 de *M. exigua* quando comparadas com as testemunhas (água e aldicarb).

3.3 Efeito do tratamento de explantes de bananeira sobre o controle de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas

Apenas as mudas advindas do tratamento de explantes com as rizobactérias *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 e *B. pumilus*-76 sobreviveram. Os demais isolados proporcionaram a morte dos explantes.

Existem relatos de que o carvão ativado promove a adsorção de hormônios (auxinas e citocininas), produtos do metabolismo da plantas (exsudatos) e metabólitos tóxicos, como compostos fenólicos (EBERT *et al.*, 1993; PAN e VAN STANDEN, 1998). Além do mais, tem a função de escurecer o meio de cultura para evitar a incidência de luz sobre a base do explante reduzindo a oxidação e favorecendo o enraizamento. No entanto, Pullmam *et al.* (2005) verificaram que os benefícios do carvão ativado e dos reguladores de crescimento adicionados aos meios só são obtidos quando se eleva o nível de fitorreguladores de interesse. O carvão ativado normalmente é adicionado ao meio de cultura em concentrações que variam de (0,2% a 3%) (BEYL, 2000), porém sua presença pode promover ou inibir o crescimento *in vitro* dependendo da espécie e do tecido utilizado.

No presente trabalho, os explantes microbiolizados com as bactérias foram colocados em tubo de ensaio contendo meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), mais carvão ativado e auxina, para estimular o enraizamento. Assim, uma nova variável ao cultivo *in vitro* tradicional foi acrescentada: as rizobactérias. *Bacillus* sp. e *P. lentimorbus* produzem hormônios de crescimento como auxinas, giberelinas e citocininas (ARAÚJO *et al.*, 2005; KARADENIZ *et al.*, 2006). Por outro lado, rizobactérias podem agir contra plantas por produzir substâncias ricas como cianeto, ácido indol-acético e 'haterulamide A' (ALSTROM e BURNS, 1989; LOPER e SCHORTH, 1986). Existem relatos na literatura que *B. pumilus* produz metabólitos que apresentam atividade fitotóxica e pode ser usado em formulações de bio-herbicidas (TOBACCO, 1998 citado por CARVALHO *et al.*, 2007). Diante dessas considerações, uma hipótese para

a morte dos explantes deve-se à quantidade de carvão utilizado. Possivelmente esta quantidade não foi suficiente para adsorver as substâncias em excesso presentes no meio, saturando os poros do carvão ativado e deixando muitas substâncias, como metabólitos tóxicos produzidos pelas rizobactérias, para os explantes, o que pode ter causado a morte destes.

3.3.1 Análises nematológicas

Observou-se efeito significativo dos diferentes isolados para as variáveis: fator de reprodução, número de galhas, número de massas de ovos e ovos de *M. javanica* por sistema radicular de bananeira ‘Prata-Anã’($P \leq 0,01$) (TABELA 5). Tal efeito não foi observado para número de juvenis de segundo estágio por 100 cm³ de solo ($P > 0,05$) (Dados não apresentados). Verificou-se que os isolados *B. pumilus*-1, *B. pumilus*-3 e *B. pumilus*-76 reduziram significativamente o fator de reprodução, o número de massas de ovos e o número ovos por sistema radicular em relação à testemunha. A maior redução dessas variáveis foi proporcionada pelas bactérias *B. pumilus*-1 e *B. pumilus*-76 (TABELA 5).

A redução do número de massas de ovos e ovos por *B. pumilus*-76 foi de 53,24% e 55,4%, respectivamente, em relação à testemunha. Para o fator de reprodução, os isolados *B. pumilus*-1 e *B. pumilus*-76 proporcionaram redução de 77,67% em comparação com a testemunha (TABELA 5). Quanto ao número de galhas, todos os isolados proporcionaram redução em relação às plantas oriundas de explantes não tratados com rizobactérias (TABELA 5).

TABELA 5. Médias das variáveis nematológicas, fator de reprodução (FR) número de galhas, massas de ovos e ovos por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ obtidas a partir de explantes tratados com isolados de rizobactérias após 60 dias de cultivo.

Isolados	FR	Galhas	Massas	Ovos
<i>Bacillus pumilus</i> -1	0,25 a	92,37 a	11,00 a	1340,50 a
<i>Bacillus pumilus</i> -3	0,37 a	103,12 a	12,37 a	1395,37 a
<i>Bacillus pumilus</i> -10	1,00 b	107,75 a	15,75 ab	2257,62 ab
<i>Bacillus pumilus</i> -76	0,25 a	110,25 a	10,87 a	1268,50 a
Testemunha	1,12 b	169,75b	23,25 b	2827,62 b
CV (%)	19,77	14,70	20,01	18,65

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos indicam que as rizobactérias afetam negativamente o desenvolvimento de *M. javanica* devido, provavelmente, a produção de antibióticos e metabólitos antagonistas aos nematoides. As rizobactérias agem diretamente sobre o nematoide através da produção de toxinas e antibióticos que afetam a eclosão e o desenvolvimento embrionário de juvenis de segundo estágio e também faz com que o nematoide não reconheça o estímulo quimiotrópico e continue movimentando-se no solo até morrer (FREITAS, 2001). Indiretamente pode ocorrer indução de resistência causando desencadeamento de reação na planta que impede a formação de células gigantes ou acarretam modificações dos exsudatos radiculares. Essa alteração pode influenciar no reconhecimento da planta e inibir a eclosão, o movimento e a penetração das raízes (RAMAMOORTHY, 2001). Indução de resistência de rizobactérias sobre nematoides foi observada por Rocha *et al.* (2010) quando avaliaram alguns isolados que foram testados neste presente experimento em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ no sistema bipartido. Esses autores observaram que os isolados *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus*- 17 e *B. pumilus*-1 reduziram o número de ovos de *M. javanica*.

Resultados semelhantes no controle de nematoides por rizobactérias têm sido verificados na literatura. Souza Júnior *et al.* (2010) testaram isolados de rizobactérias provenientes da cultura de arroz, separados e em combinações, no controle de *Meloidogyne graminicola* (Golden e Berchfield, 1965). Esses autores observaram que todos os tratamentos de rizobactérias testadas, isoladas ou em combinação com outras rizobactérias, reduziram o número de galhas nas raízes das plantas, com variação de 30% a 73% em relação à testemunha.

Redução do número massas de ovos, ovos e juvenis de segundo estágio foi também constatada por Khan *et al.* (2010) quando trataram sementes de quiabo e feijão-da-índia com isolados de *B. thurigiensis* de várias culturas no controle de *M. javanica*.

3.3.2 Análises Agronômicas

Verificou-se efeito significativo dos diferentes isolados de rizobactérias para o peso de matéria seca de parte aérea ($P \leq 0,01$). As demais variáveis agronômicas não foram influenciadas pela presença das bactérias. Também não houve interação significativa ($P > 0,05$) entre os fatores isolados bacterianos e nematoide (presença ou ausência) e nem para o fator independente (ausência ou presença de nematoide), para todas as variáveis agronômicas analisadas, número de folhas, diâmetro do pseudocaule, peso da matéria fresca de parte aérea, peso de matéria seca de parte aérea, peso da matéria fresca da raiz e peso da matéria seca da raiz ($P > 0,05$) (Dados não apresentados).

Observa-se pela tabela 6 que apenas *B. pumilus-76* proporcionou aumento significativo de 19,88% do peso de matéria seca de parte aérea em relação à testemunha. Esse aumento pode ter ocorrido em função da redução do fator de reprodução de *M. javanica* ou pela produção de fatores de

crescimento. Vários trabalhos revelam que *B. pumilus* produz auxinas e giberelinas (ARAÚJO *et al.*, 2005; CARVALHO *et al.*, 2009).

Freitas *et al.* (2005) também encontraram resultados que corroboram os encontrados neste trabalho, quando testaram isolados de rizobactérias provenientes de solo de tomateiro. Verificou-se que nenhum isolado apresentou promoção de crescimento de plantas de tomate.

É importante salientar que as espécies do gênero *Bacillus* são atraentes como inoculantes potenciais na agricultura, na medida em que produzem esporos muito resistentes que podem sobreviver por longos períodos no solo e em recipientes de armazenamento (LAZAROVITS e NOWAK, 1997). Isso dá a essa espécie capacidade de se estabelecer em tempo oportuno durante o processo de produção de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’.

TABELA 6. Médias das variáveis agronômicas, número de folhas, peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA), peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) e peso de matéria fresca da raiz (PMFR) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ obtidas a partir de explantes tratados com isolados de rizobactérias após 60 dias de cultivo.

Isolados	NF	PMFPA	PMSPA	PMFR
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	8,75 b	37,84 ab	4,50 ab	30,13 b
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	9,25 ab	37,78 ab	4,93 ab	35,08 ab
<i>Bacillus pumilus</i> -10	9,06 ab	36,46 ab	4,31 ab	34,36 ab
<i>Bacillus pumilus</i> -76	9,56 a	41,03 a	5,03 a	36,43 a
Testemunha	9,31ab	32,52 ab	4,03 b	31,85ab
CV (%)	7,62	15,67	21,43	15,71

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados contrários foram obtidos em trabalho realizado por Khan *et al.* (2010) que observaram que isolados de *Bacillus thuringiensis* oriundos de várias culturas promoveram o crescimento de plantas de quiabo e feijão-da-índia. Isolados de bactérias epífitas e endofíticas obtidas de plantas de alface foram testados para a produção de crescimento de mudas e plantas. Experimento realizado por Gomes *et al.* (2003) demonstrou que os isolados de bactérias epífitas C116 (*B. pumilus*) aumentaram matéria fresca da raiz, matéria fresca da parte aérea e matéria fresca total, e C25 (*B. thuringiensis* subvar. *Kenya*) (Berliner, 1915) incrementaram matéria fresca da raiz e matéria fresca total de mudas de alface, diferindo da testemunha.

Neste trabalho, observa-se que diferentes isolados, da mesma espécie de bactéria *B. pumilus*, apresentaram resultados diferentes para as variáveis agronômicas e as variáveis nematológicas. Isso pode ser explicado pela variabilidade intraespecífica. Vários trabalhos reportam a existência dessa variabilidade entre bactérias (FIGUEIREDO *et al.*, 2009, MANZANO *et al.*, 2009; PORWAL *et al.*, 2009). Membros do gênero *Bacillus* compreendem bactérias aeróbicas, gram-positivas, em forma de bastonetes e formadoras de

esporos. As espécies de *Bacillus* são heterogêneas fenotípica e genotipicamente (CLAUS e BERKELEY, 1986 citados por PORWAL *et al.*, 2009). Diversidade genotípica de isolados de *B. pumilus* procedentes de leite cru foi verificada por Jorghe *et al.* (2008). Porwal *et al.* (2009) também registraram variabilidade intraespecífica em várias espécies de *Bacillus*, principalmente em *B. pumilus*.

4 CONCLUSÕES

Nenhuma rizobactéria coloniza as raízes de bananeira ‘Prata-Anã’ *in vitro*.

As bactérias *Bacillus pumilus*-1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10 e *Bacillus* sp- 36 colonizam a região do rizoma de mudas de bananeira, promovem o desenvolvimento de explantes e a mortalidade de J2 de *Meloidogyne javanica in vitro*.

A microbiolização de explantes de bananeira, produzidos em meio com carvão ativado ‘Prata-Anã’ com *B. pumilus*-76, promove o aumento do peso de matéria seca de parte aérea.

A microbiolização de explantes de bananeira ‘Prata-Anã’ com *B. pumilus*-1, *B. pumilus*-3 e *B. pumilus*- 76 é eficiente no controle de *M. javanica*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, B.; SABRI, A. N.; HASNAIN, S. Rhizobacterial potential to alter auxin content and growth of *Vigna radiata* (L). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1379-1384, 2009.

ALSTROM, S.; BURNS, R.G. Cyanide production by rhizobacteria as possible mechanism of plant growth inhibition. **Biology and Fertility of Soils**, v. 7, p. 232, 1989.

ARAÚJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p. 1639-1645, 2005.

ARAÚJO, F. F. ; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A.S.F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *H. glycines* em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 197-202, 2002.

ARAÚJO, K. S. *et al.* **Promoção do crescimento de mudas micropropagadas de bananeira por rizobactérias, 2010**. Disponível em: <http://www.cnpmf.Embrapa.br/.../Resumo_Kaliane_AS_Harlen_SAS_res_JR-ED_Pdf>. Acesso em 12/01/2010.

BEYL, C. A. Getting started with tissue culture. In: TRIGIANO, R. N.; GRAY, D. J. (Ed.). **Plant tissue culture concepts and laboratory exercises**. Boca Raton: CRC Press, 2000, cap. 3, p. 21-38.

BONETI, J. I. S., S. FERRAZ. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553. 1981.

BORONIN, A. M. *et al.* **Biological control of soilborne plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia**. In: VI INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY., Montreal, Canada, Int. Soc. Plant Path, 1993, p. 276 (abstr.).

BROWN, M. E. Seed and root bacterization. **Annual Review of Phytopathology**, v. 12, p. 181-197, 1974.

BOWEN, G. D.; FOSTER, R. C. **Dynamics of microbial colonization of plant roots**. In: BROUGHTON, W. J.; JOHN, C. J. P (Eds) Symposium of Soil Microbiology and Plant Nutrition, University of Malaya Press, 1978. p. 14-31.

BOWEN, G. D.; ROVIRA, A. D. Microbial colonization of Plant roots. **Annual Review of Phytopathology**, v. 14, p. 121-144, 1976.

CARVALHO, D. D. C. *et al.* Rhizobacteria able to produce phytotoxic metabolites. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, p. 759-765, 2007.

CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, p. 117-121, 2000.

CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso? **Biociência e Desenvolvimento**, v. 19, p. 17-21, 2001.

DAWAR, S.; TARIQ, M.; ZAKI, M. J. Application of *Bacillus* species in controlo of *Meloidogyne javanica* (TREUB) CHITWOOD on cowpea and mash bean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, p. 439-444, 2008.

EBERT, A.; TAYLOR, F.; BLAKE, J. Changes of 6-benzylaminopurine and 2,4-dichlorophenoxyacetic acide concentration in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 33, p. 157-162, 1993.

ELMERICH, C. Molecular biology and ecology of diazotrophs associated with non-leguminous plantlets. **Biotechnology**, v. 2, p. 967-978, 1984.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA

SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, v. 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, p. 255-258.

FIGUEIREDO, J. E. F. *et al.* Molecular analysis of endophytic bacteria from the genus *Bacillus* isolated from tropical maize (*Zea mays* L.) **Brazilian Journal Microbiology**, São Paulo, v. 40, p. 522-534, 2009.

FREITAS, L. G. **Rizobactérias versus nematoides, 2001**. Disponível em:< <http://ufv.br/dfp/lab/nematologia/rizo.pdf>>. Acesso em 11 de janeiro de 2010.

FREITAS, L.G. *et al.* Isolamento e Seleção de Rizobactérias para controle de nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura de tomateiro. **Nematologia brasileira**, Piracicaba, v. 29, p. 215-220, 2005.

FROMMEL, M. I.; NOWAK, J.; LAZAROVITS, G. Growth Enhancement and developmental modification of *in vitro* grow potato (*Solanum tuberosum* SSP. *Tuberosum*) as affected by a non fluorescent *Pseudomonas* sp. **Plant Physiology**, v. 96, p. 928-936, 1991.

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Journal of Microbiology**, v. 41, p. 109-117, 1995.

GOMES, A. M. A. *et al.* Isolamento, seleção de bactérias e efeito de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura brasileira**, Campinas, v. 21, p. 699-703, 2003.

HABE, M. H.; UESUGI, C. H. Método *in vitro* para avaliar a capacidade colonizadora de bactérias em raízes de tomateiro. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 25, p. 657-660, 2000.

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

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

JONGHE, V. *et al.* Intraspecific genotypic diversity of *Bacillus* species from raw Milk. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 496-505, 2008.

JOO, G.J *et al.* Gibberelins-producing rhizobacteria increase endogenous gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. **Biotechnology Letters**, v. 26, p. 473-491, 2004.

LOPER, J. E.; SCHROTH, M. N. Influence of bacteria sources of Indole-3-acetic acid on root elongation of sugarbeet. **Phytopathology**, v. 76, p. 386-389, 1986.

KARADENIZ, A.; TOPCUOGLU, S. F.; INAN, S. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, p. 1061-1064, 2006.

KHAN, M. Q. *et al.* Evaluation of *bacillus thuringiensis* isolates against root-knot nematodes following seed application in okra and mungbean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, p. 2903-2910, 2010.

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; SCHROTH, M. N. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. **Atlas of Science Animal and Plant Sciences**, v. 1, p. 60-64, 1988.

KLOEPPER, J. W. *et al.* R.. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: KEISTER, D.L. e CREGAN, P.B. **The rhizosphere and plant growth**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The NetherZlands, 1990. p. 315-326.

LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **HortScience**, v. 32, p. 188-192, 1997.

LUCON, C. M. M.; MELO, I. S. Seleção de rizobactérias antagônicas a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, em tubérculos de batata. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 132-136, 1999.

MANZANO, M. *et al.*. Molecular methods to evaluate biodiversity in *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains from different origins. **Food Microbiology**, v. 26, p. 259-264, 2009.

MARIANO, R. L. R. *et al.*. Mecanismos de ação de bactérias promotoras de crescimento. In: MARIANO, R. L. R (Coord.). **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Editora Universitária, 2000, p. 139-151.

MELO, I. S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. **Ecologia Microbiana**, 1998, cap. 3, p. 87-100.

MOTA, F. F.; GOMES, E. A.; SELDIN, L. Auxin production and detection of the gene coding for the Auxin Efflux Carrier (AEC) protein in *Paenibacillus polymyxa*. **The Journal of Microbiology**, v. 46, p. 257-264, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium from rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NOWAK, J. Benefits of *in vitro* “biotization” of plant tissue cultures with microbial inoculants. **In Vitro Cell and Development Biology Plant**, v. 34, p. 122-130, 1998.

NOWAK, J.; *et al.* From laboratory to applications: 43 challenges and progress with *in vitro* dual cultures of potato and beneficial bacteria. **Plant Cell**, v. 50, p. 97-103, 1998.

OLIVEIRA, D. F. *et al.* Selection of rhizobacteria able to produce metabolites active against *Meloidogyne exigua*. **European Journal Pathology**, v. 19, p. 477-479, 2007.

PAN, J. J.; VAN STADEN, J. The use of charcoal in *in vitro* culture – a review. **Plant Growth Regulators**, v. 26, p. 155-163, 1998.

PATTEN, C.L.; GLICK, B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 207-230, 1996.

PORWAL, S. *et al.* **Phylogeny in Aid of the Present and Novel Microbial Lineages: Diversity in *Bacillus***, 2009. Disponível em: <<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0004438>>. Acesso em 22/02/2011.

PULLMAN, G.S. *et al.* Improved Norway spruce somatic embryo development through the use of abscisic acid combined with activated carbon. **Plant Cell Report**, v. 24, p. 271-279, 2005.

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

ROCHA, L. S. **Efeito da aplicação de rizobactérias sobre *Meloidogyne javanica* e Mal- do- Panamá em bananeira “Prata-Anã”**. 2010. 48 p. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba- MG, 2010.

SANHUEZA, R. M. V. B.; MELO, I. S. Identificação de bactérias por análise dos ácidos graxos. In: _____. **Métodos utilizados no biocontrole de fitopatógenos**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007, p. 59-65.

SCHIPPERS, B., BAKKER, A. W. & BAKKER, P. A. H. M. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 339-358, 1987.

SIKORA, R.A e HOFFMANN-HERGARTEN, S. 1993. Biological control of plant parasitic nematodes with plant health promoting rhizobacteria. In: LUMSDEN, R.D and J. L. VAUGHN, J. L. **Pest Management: Biotechnology based technologies**. Eds American Chemical Society, Washington. USA, 1993, p. 166-172.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MOUNTEER, A. Development of a Root Colonization Bioassay for Rapid Screening of Rhizobacteria for Potential Biocontrol Agents. **Journal of Phytopathology**, v. 151, p. 42-46, 2003.

SOTERRO, A. N. *et al.* Rizobactérias e alface: Colonização Rizosférica, Promoção de crescimento e controle Biológico. **Revista Brasileira Ciência dos Solos**, Viçosa, v. 30, p. 225-234, 2006.

SOUZA JÚNIOR, I. T. *et al.* Biocontrole da queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesquisa Agropécuaria Brasileira**, Brasília, v. 45, p. 1259-1267, 2010.

STIRLING, G. R. **Biological Control of Plant Parasitic Nematodes: Progress, Problems, and Prospects.** CAB International, 1991.

TAYLOR, H. L e SASSER, J. N. **Biological, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.).** North Carolina State University Graphics Raleigh, p. 111, 1978.

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

CAPÍTULO II

PERÍODOS DE TRATAMENTO DE RAÍZES DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE BANANEIRA 'PRATA-ANÃ' COM RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS

RESUMO

LOPES, Pollyanna Santiago. **Períodos de tratamento de raízes de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ com rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de crescimento de plantas.** 2011. Cap 2, p. 60-110. Dissertação (Produção Vegetal no semiárido)- Universidade Estadual de Montes Claros-MG.¹

O objetivo deste trabalho foi avaliar em casa de vegetação a influência de diferentes períodos de imersão de raízes de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ micropropagadas, em suspensão de diferentes isolados de rizobactérias no crescimento de mudas e no controle de *Meloidogyne javanica*. Foram realizados dois experimentos. No ensaio 1 o experimento foi montado em DBC em esquema fatorial 10 (isolados de rizobactérias) x 2 (períodos de imersão) com 10 repetições. Os tratamentos adicionais denominados testemunhas foram compostos por mudas sem nenhum tratamento infectadas com *M. javanica* (testemunha 1) e mudas infectadas com *M. javanica*, tratadas com solução salina (Testemunha 2). As rizobactérias foram multiplicadas em meio TSB a 28 °C por 48 horas sob agitação de 150 rpm. Em seguida a suspensão foi centrifugada a 10.000 rpm e o sobrenadante descartado. As células bacterianas foram ressuspensas em solução salina (NaCl 0,85%). As mudas tratadas foram plantadas em vasos contendo solo: areia na proporção de 2:1 previamente autoclavados. Após vinte quatro horas adicionou-se ao solo suspensão contendo 3.000 ovos de *M. javanica*. Aos 60 dias foram avaliados: número de galhas, de massas de ovos e ovos por sistema radicular, o número de juvenis de segundo estágio (J2) por 100 cm³ de solo e calculado o fator de reprodução. Foram avaliados ainda a altura de plantas, o diâmetro do pseudocaule, o número de folhas, o peso de matéria fresca da raiz e de parte aérea e o peso de matéria seca de parte aérea. O ensaio 2 foi montado da mesma maneira que o ensaio 1, com exceção de que não houve a infestação de *M. javanica*, o número de repetições foram nove e avaliou-se o peso de matéria seca da raiz. No ensaio 1, as bactérias *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24, *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*-76 promoveram o crescimento das mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, infectadas com *Meloidogyne javanica*. As bactérias *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus*-17, *Bacillus* sp.-34, *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus* -76 foram eficientes no controle de *M. javanica* em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’. No ensaio 2, o tempo de 120 minutos promoveu maior desenvolvimento e controle de *M.*

¹Comitê de Orientação; Prof^ª Regina Cássia Ferreira Ribeiro- DCA/UNIMONTES (Orientadora); Prof^ª Adélica Aparecida Xavier- DCA/UNIMONTES (Coorientadora); Prof^ª Márcia Regina Costa-DCA/UNIMONTES; Prof^º Edson Hiydu Mizobtsi-DCA/UNIMONTES; Prof^º Fernando da Silva Rocha- ICA/UFMG.

javanica em mudas de bananeira 'Prata-Anã'. No ensaio 2, no tempo de imersão de raízes de bananeira 'Prata-Anã' de 60 minutos, as bactérias *B. pumilus*-1, *B. pumilus*- 10, *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24 e *P. lentimorbus*-76 promoveram o aumento de mudas de bananeira. No tempo de 120 minutos, as bactérias *B. pumilus*-10, *B. lentimorbus*-17, *Bacillus* sp.- 36 *B. pumilus*-60 e *P. lentimorbus*- 69 promoveram o aumento de mudas de bananeira 'Prata-Anã'.

Palavras-chave: *Musa* sp., microbiolização, nematoides de galhas, *Paenibacillus* sp e *Bacillus* spp.

ABSTRACT

LOPES, Pollyanna Santiago. **Treatment periods of roots of micropropagated plantlets of 'Prata-Anã' banana with rhizobacteria in the control of *Meloidogyne javanica* and development of plant growth.** 2011. Cap 2. p 60-110. Dissertation (Master's degree in Plant Production in the Semiarid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.¹

This work aimed to evaluate in greenhouse the influence of different immersion periods of roots of micropropagated plantlets of 'Prata-Anã' banana, in suspension of different rhizobacteria isolates in the growth of plantlets and in the control of *Meloidogyne javanica*. Two experiments were carried through. In the 1st assay, the experiment was set in RBD in a factorial scheme 10 (rhizobacteria isolates) x 2 (periods of immersion) with 10 repetitions. The additional treatments called controls were composed of plantlets without treatment infected by *M. javanica* (control 1) and plantlets infected with *M. javanica*, treated with saline solution (Control 2). The rhizobacteria were multiplied in medium the TSB to 28°C for 48 hours under agitation of 150 rpm. After that the suspension was centrifuged to 10,000 rpm and the supernatant was discarded. The bacterial cells were resuspended in saline solution (NaCl 0.85%). The treated plantlets were grown in pots containing soil:sand in the ratio of 2:1) previously autoclaved. After twenty four hours, suspension containing 3,000 eggs of *M. javanica* was added to soil. At 60 days they were evaluated: number of root-knot, of eggs masses and eggs for root, the number of second stages juveniles (J2) per 100 cm³ of soil and calculated the reproduction factor. The plantlets height, pseudostem diameter, the leaf number, the weight of root and shoot fresh matter and weight of shoot dry matter were also evaluated. The 2nd assay was carried out in the same way that 1st assay, with exception of infestation with *M. javanica*, nine repetitions were made and evaluated the weight of root dry matter. In the 1st assay, bacteria *P. lentimorbus-17*, *P. lentimorbus-24*, *B. subtilis-34* and *B. pumilus-76* provided the growth of 'Prata-Anã' banana plantlets infected with *Meloidogyne javanica*. Bacteria *B. pumilus-10*, *P. lentimorbus-17*, *Bacillus* sp. - 34, *P. lentimorbus-69* and *B. pumilus -76* were efficient in the control of *M. javanica* in 'Prata-Anã' banana plantlets. In the

¹ Guidance Committee; Regina Cássia Ferreira Ribeiro- SAD/UNIMONTES (Advisor); Adelica Aparecida Xavier- SAD/UNIMONTES (Co-advisor); Márcia Regina Costa- SAD/UNIMONTES; Edson Hiydu Mizobutsi- DCA/UNIMONTES; Fernando da Silva Rocha- SAI/UFMG.

2 assay, the time of 120 minutes provide greater development and control of *M. javanica* in plantlets of 'Prata-Anã' banana. In assay 2, in the time of immersion of roots of 'Prata-Anã' banana tree of 60 minutes, the bacteria *B. pumilus*-1, *B. pumilus*- 10, *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24 and *P. lentimorbus*-76 increased the plantlets of banana tree. In the time of 120 minutes, bacteria *B. pumilus*-10, *B. lentimorbus*-17, *Bacillus* sp. - 36 *B. pumilus*-60 and *P. lentimorbus*- 69 increased plantlets of 'Prata-Anã' banana.

Key-words: *Musa* sp. Microbiolization, root-knot nematodes, *Paenibacillus* sp., *Bacillus* spp.

1 INTRODUÇÃO

Os fitonematoides estão entre os principais problemas fitossanitários da bananicultura brasileira. As perdas causadas por tais parasitas podem chegar a 100% quando o seu controle não é efetuado corretamente. Danos nas raízes e nos rizomas, causados pela invasão de nematoides seguidos por certos fungos e bactérias, são os mais sérios problemas na cultura da banana (COSTA, 2000). Esses patógenos comprometem a absorção e transporte de água e nutrientes pelo sistema radicular, provocam o tombamento de plantas e as predispõem ao ataque de outros microrganismos (DIAS *et al.*, 2001).

Várias espécies de fitonematoides estão associadas à rizosfera da bananeira. Entretanto, apenas *Radopholus similis*, *Meloidogyne* spp., *Helicotylenchus multicinctus* e *Pratylenchus coffeae* são espécies tidas como de maior importância econômica. Dentre essas, *R. similis*, *P. coffeae* e *Meloidogyne* spp. se destacam pelos danos causados e pela ampla distribuição nas principais regiões produtoras de banana do mundo (COSTA, 2000). Dentre as espécies de *Meloidogyne* presentes em diferentes regiões produtoras de banana, *M. incognita* e *M. javanica* são as de ocorrência mais ampla (ZEM *et al.*, 1980; ZEM *et al.*, 1984).

Nas regiões mais áridas do Brasil, *M. incognita* e *M. javanica* têm ampla distribuição nos cultivos de banana podendo seus danos, em determinadas áreas, serem comparáveis aos de *R. similis* (MOREIRA, 1995). Levantamentos realizados em solos de bananais nos Estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, apontaram a presença de *M. javanica* e *M. incognita* em 58 e 34% das amostras, respectivamente (COFCEWICZ *et al.*, 2001). Em bananais no Norte de Minas, Dias *et al.* (2001) verificaram aumento nas populações de *Meloidogyne* em comparação com *R. similis*, *Helicotylenchus* spp, *Pratylenchus* spp e *R. reniformis*.

A disseminação de *Meloidogyne* spp. como de outros nematoides é altamente dependente do homem, seja por meio de mudas contaminadas, deslocamento de equipamentos de áreas contaminadas para áreas saudias ou da irrigação e/ou água das chuvas. Após o estabelecimento de fitonematoides no bananal, o seu controle é muito difícil.

No Norte de Minas, o controle químico é a principal medida de controle dos nematoides. No entanto, este método apresenta alto custo, causa vários danos ao homem e contaminação do ambiente. Diante desses entraves, existe uma demanda crescente de práticas agrícolas menos agressivas ao ecossistema e de alimentos livres de resíduos de pesticidas (FREITAS *et al.*, 2000).

Na procura por métodos não químicos, pesquisas vêm sendo realizadas visando à utilização de inimigos naturais. Dentre os antagonistas dos nematoides, destacam-se os fungos, nematoides predadores, bactérias e outros (KERRY,1990; POINAR e JANSSON,1988). Desses, as rizobactérias são as mais promissoras para o controle biológico, pois apresentam várias vantagens sobre outros agentes de controle biológico: são de fácil produção em larga escala, de fácil armazenamento, ocorrem em abundância nos solos, são adaptáveis à tecnologia de formulação e não requerem manipulação genética (COIMBRA *et al.*, 2005; SIKORA, 1992). As rizobactérias sobrevivem na rizosfera das plantas à custa de exsudatos liberados pelas raízes e, além de atuarem no controle de nematoides, muitas promovem o crescimento de plantas.

Uma das principais medidas preventivas no controle de nematoide é a utilização de mudas micropropagadas, que apresenta vantagem de garantia sanitária. No entanto, essas mudas podem ser infectadas rapidamente quando transplantadas para o solo, devido à eliminação da microbiota benéfica ao crescimento vegetativo (LAZAROVITS e NOWAK,1997). Diante disso, uma estratégia possível é o uso de rizobactérias no tratamento de raízes de mudas micropropagadas de bananeira, o que pode promover também a redução populacional de alguns patógenos que parasitam o sistema radicular

das plantas, como os fitonematoides. Existe na literatura uma variação no tempo de tratamento de mudas com rizobactérias no controle de fitopatógenos e promoção do desenvolvimento de plantas. Imersão de sementes de feijão-caupi e fradinho, em suspensões bacterianas de *Bacillus* spp. por 48 horas, proporcionaram aumento do crescimento de plantas e controle de *M. javanica* (DAWAR *et al.*, 2008). Souza Júnior *et al.* (2010) verificaram que a imersão de sementes de arroz por 30 minutos sob agitação em suspensões bacterianas de rizobactérias isoladas da cultura de arroz também promoveu o crescimento das plantas e o controle de *Meloidogyne graminicola*. Todavia, para o tratamento de mudas de bananeira ainda não existe informação sobre o período de tempo de contato entre as células bacterianas e as raízes.

Dessa forma, objetivou-se neste trabalho avaliar, em casa de vegetação, a influência de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira ‘Prata-Anã’ micropropagadas em suspensão de diferentes isolados de rizobactérias no crescimento de mudas e no controle de *M. javanica*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia, UNIMONTES, *Campus* Janaúba.

2.1 Obtenção de mudas micropropagadas de bananeira

As mudas de bananeira 'Prata-Anã' foram obtidas do Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, *Campus* Janaúba.

Rizomas de bananeira 'Prata-Anã' foram retirados do bananal da fazenda Santana, no município de Nova Porteirinha. Esses rizomas foram cortados utilizando facão extraíndo-se parte das bainhas foliares e do próprio rizoma, de modo que o explante contendo o meristema apical ficasse com dez centímetros de comprimento e três centímetros de diâmetro. Após esta primeira limpeza mecânica, os explantes foram acondicionados em água deionizada e conduzidos ao Laboratório de Biotecnologia da UNIMONTES.

No laboratório, foi efetuada a segunda limpeza mecânica utilizando o bisturi, reduzindo-se os explantes a cinco centímetros de comprimento, os quais foram submetidos à desinfestação em solução de estreptomicina 0,3 g.L⁻¹ por 20 minutos, Derosal[®] a 0,6% p.a por 20 minutos e em álcool comercial a 92,8% por 60 segundos. A imersão nas soluções para desinfestação foi intercalada por lavagem em água estéril deionizada.

Posteriormente, esses explantes foram submetidos à agitação por 25 minutos em hipoclorito de sódio 2% p.v, onde se adicionaram duas gotas de Tween 20. Após esse período, os explantes foram conduzidos à câmara de fluxo laminar e lavados três vezes em água deionizada autoclavada, reservando-os na quarta água.

Na câmara de fluxo laminar, realizou-se a terceira limpeza mecânica utilizando pinça e bisturi, deixando os explantes com 3 cm de comprimento. Nesta fase de estabilização dos explantes, eles foram inoculados em meio de

cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 3 mg.L⁻¹ de 6-Benzilaminopurina, 2,5 g.L⁻¹ de carvão ativado, 10 mg.L⁻¹ de vitaminas do White, 0,1 g.L⁻¹ de Mio inositol e 7 g.L⁻¹ de Ágar.

Após a introdução, os explantes foram mantidos no escuro por sete dias e ao final deste período foram transferidos para sala de cultivo com lâmpadas fluorescentes do tipo super luz do dia de 40 Watts, intensidade luminosa de 25 W.m⁻², temperatura de 25 ± 3 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz e oito de escuro. Após 21 dias, iniciou-se a fase de multiplicação dos explantes. Os seis subcultivos sucessivos da fase de multiplicação foram realizados em frascos de 10 cm de altura e 6 cm de diâmetro em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 3 mg.L⁻¹ de 6-Benzilaminopurina, 10 mg.L⁻¹ de vitaminas do White, 0,1 g.L⁻¹ de Mio inositol e 7 g.L⁻¹ de Ágar. Os subcultivos foram realizados a cada 20 dias. Vinte dias após efetuada a sexta repicagem, os explantes foram transferidos para o meio de enraizamento em frascos de 10 cm de altura e 6 cm de diâmetro em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementando com 0,1 mg.L⁻¹ de ANA, 30 g.L⁻¹ de sacarose e 7 g.L⁻¹ de ágar. Trinta dias após o enraizamento, os explantes foram retirados dos frascos contendo meio de cultura e lavados em água deionizada para extração de resíduos. Em seguida, as mudas foram acondicionadas em bandeja plástica contendo água deionizada e fechada com filme de PVC, até a montagem do experimento.

2.2 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o controle de *Meloidogyne javanica*

Mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ produzidas 30 dias após o cultivo em meio de enraizamento conforme o item 2.1 (completamente enraizadas, com três folhas lançadas e no mínimo cinco centímetros de altura) tiveram seus sistemas radiculares lavados em água. Em seguida, as mudas foram colocadas em erlenmeyers contendo suspensão de células bacterianas

calibrada para $OD_{540} = 0,5$ de absorvância. Os erlenmeyers foram submetidos à agitação constante a 200 rpm aumentando assim a eficiência de contato entre raízes e bactérias por 60 e 120 minutos. A seguir, as raízes foram transferidas para tubetes contendo substrato plantmax[®] onde permaneceram por 30 dias em viveiro com irrigação controlada e sombrite. Após a fase de aclimatização, foram transplantadas para vasos plásticos de 3 L de capacidade contendo substrato composto de solo:areia (2:1) previamente autoclavado durante três dias consecutivos. Vinte quatro horas após o transplante, foi adicionada a suspensão de 5 mL contendo 3000 ovos de *M. javanica* em três orifícios, no solo, ao redor da muda. As testemunhas foram os tratamentos adicionais, compostas por plantas inoculadas com solução salina (NaCl 0,85%) + nematoides e plantas sem inoculação de rizobactérias e sem nematoides. O ensaio foi montado em casa de vegetação em delineamento em blocos ao acaso no esquema fatorial: 2 (períodos de imersão, 60 e 120 minutos) x 10 (isolados de rizobactérias) com dez repetições. As rizobactérias avaliadas foram: *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24, *B. subtilis*- 34, *Bacillus* sp.-36, *B. pumilus*-60, *P. lentimorbus*-69, *B. pumilus*-76. A irrigação das plantas foi feita manualmente, conforme a necessidade hídrica.

Após 60 dias em casa de vegetação, foram avaliados número de folhas, diâmetro do pseudocaule (com auxílio do paquímetro), peso da matéria fresca e seca da parte aérea (pseudocaule + folhas), peso de matéria fresca do sistema radicular, altura das plantas (medida do colo da planta até o lançamento da última folha). Para avaliar a matéria seca, a parte aérea foi cortada na altura do colo da planta, seca em estufa sob ventilação forçada a 65 °C por 72 horas e, posteriormente, pesada em balança analítica.

Para as avaliações nematológicas, o sistema radicular foi removido cuidadosamente do solo em água parada contida em um balde de 10 litros. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água parada. A seguir, massas de ovos dos nematoides nos sistemas radiculares foram coradas com floxina B (TAYLOR e SASSER, 1978). Após a coloração, as raízes foram deixadas

sobre papel-toalha por 10 minutos, possibilitando, assim, a avaliação do peso da matéria fresca das raízes, seguida da contagem de massas de ovos e de galhas por sistema radicular. Para quantificação do número de ovos por sistema radicular, as raízes foram lavadas, picadas em pedaços de aproximadamente um centímetro, transferidas para o liquidificador onde foi adicionada solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% e trituradas por 20 segundos. Essa suspensão foi vertida nas peneiras sobrepostas de 0,850 mm, 0,250 mm e 0,025 mm. Os ovos retidos na peneira de 0,025 mm foram recolhidos com jatos de água com auxílio de pisseta de acordo com a técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Bonetti e Ferraz, (1981). Em microscópio de objetiva invertida, foram contados os ovos de *M. javanica* por sistema radicular. O número de juvenis de segundo estágio (J2) por 100 cm³ de solo foi avaliado após extração do solo por meio de técnica de Jenkins (1964). Foi realizada a homogeneização das amostras de solo, de onde se retirou uma alíquota de 100 cm³. Posteriormente, solo e água foram homogeneizados manualmente por 10 segundos para desagregar os torrões do solo e facilitar a suspensão dos J2. Após 20 segundos de decantação, o líquido foi vertido sobre conjuntos de peneiras de 0,850 mm, 0,250 mm e 0,045 mm de diâmetro de abertura. Os nematoides retidos na última peneira foram recolhidos utilizando a pisseta com água. A suspensão obtida foi colocada em tubos de centrifuga de 50 mL e centrifugados a 1750 rpm por cinco minutos. Após a centrifugação, eliminou-se o líquido sobrenadante, adicionou-se solução de sacarose (400 g de açúcar refinado dissolvidos em 750 mL de água). Homogeneizou-se o sobrenadante e o submeteu à outra centrifugação por um minuto a 1750 rpm. O sobrenadante foi vertido em uma peneira de 0,025 mm e, utilizando a pisseta, foram recolhidos 20 mL da suspensão em que se realizou a contagem em câmara de Peters em microscópio ótico. O fator de reprodução (FR) foi obtido por meio da fórmula $FR = Pf/Pi$, onde Pf é o número de ovos aos 60 dias e Pi o número de ovos utilizado na infestação do solo.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knot (1974) ($P < 0,05$). As médias das testemunhas foram comparadas com os demais tratamentos pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

2.3 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o desenvolvimento de mudas de bananeira

Mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ produzidas 30 dias após o cultivo em meio de enraizamento conforme o item 2.1 (completamente enraizadas com três folhas lançadas e no mínimo cinco centímetros de altura) tiveram seus sistemas radiculares lavados em água e imersos em suspensão bacteriana calibrada para $OD_{540} = 0,5$ de absorvância por dois períodos (60 e 120 minutos). As mudas foram colocadas em erlenmeyers e estas foram submetidas à agitação constante a 200 rpm aumentando assim a eficiência de inoculação das bactérias às raízes. Em seguida foram transferidas para o tubetes contendo substrato Plantmax[®] onde permaneceram por 30 dias em viveiro com irrigação controlada e sombrite. Após a fase de aclimatização foram transplantadas para vasos plásticos de 3 L de capacidade contendo substrato composto de solo: areia (2:1) autoclavado durante três dias consecutivos. O ensaio foi montado em casa de vegetação em delineamento em blocos ao acaso no esquema fatorial: 10 (isolados de rizobactérias) x 2 (períodos de imersão, 60 e 120 minutos) com nove repetições. As testemunhas foram tratamentos adicionais compostas por plantas não inoculadas com rizobactérias e plantas imersas apenas em solução salina (NaCl 0,85%). A irrigação das plantas foi feita manualmente, conforme a necessidade hídrica.

Após 60 dias foram avaliados, o número de folhas, o diâmetro do pseudocaule (com auxílio do paquímetro), o peso da matéria fresca e seca da parte aérea (pseudocaule + folhas), o peso de matéria fresca do sistema radicular, a altura das plantas (medida do colo da planta até o lançamento da

última folha). Para avaliar a matéria seca, a parte aérea foi cortada na altura do colo da planta, seca em estufa sob ventilação forçada a 65 °C por 72 horas e posteriormente pesada em balança analítica o sistema radicular foi removido cuidadosamente do solo e lavado em água parada contida em um balde de 10 litros, depois colocados para secar em papel-toalha e em seguida pesado em balança analítica. Para o peso de matéria seca do sistema radicular utilizou-se o procedimento descrito para a parte aérea.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (1974) a 5% de probabilidade. As médias das testemunhas foram comparadas com as dos demais tratamentos pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o controle de *Meloidogyne javanica*

3.1.1 Características Agronômicas

De acordo com a análise de variância, verificou-se efeito independente do fator isolados bacterianos (para as variáveis altura, diâmetro do pseudocaule, peso de matéria fresca da raiz, peso da matéria fresca da parte aérea e peso da matéria seca de parte aérea ($P>0,05$). Não houve interação significativa entre os fatores analisados para nenhuma das variáveis agronômicas avaliadas ($P>0,05$). (Dados não apresentados).

Com relação ao efeito de isolados bacterianos, independentemente do período de imersão, observa-se que *P. lentimorbus*-17 proporcionou um aumento de altura de plantas, de 15,70% e 11,38% quando comparado com as testemunhas 1 (não tratadas com rizobactérias) e 2 (mudas tratadas com NaCl 0,85%), respectivamente. Além disso, *P. lentimorbus*-17 promoveu altura significativamente superior aos demais isolados (TABELA 1).

Para a variável diâmetro do pseudocaule, as rizobactérias *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24, *P. lentimorbus*-69, *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*-60, *B. pumilus*- 76 apresentaram aumento de 11,62%, 12,08%, 11,17%, 12,53%, 15,55% e 11,63%, respectivamente em relação à testemunha 1 e 8,52%, 8,99%, 8,05%, 9,46%, 12,59% e 8,52%, respectivamente em relação à testemunha 2. Essas bactérias também propiciaram diâmetro superior quando comparadas aos demais isolados (TABELA 1).

TABELA 1. Médias das variáveis altura, diâmetro de pseudocaule (DP), peso de matéria fresca da raiz (PMFR), peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA) e peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ tratadas com diferentes isolados de rizobactérias e inoculadas com *M. javanica*.

Isolados	Altura	DP	PMFR	PMFPA	PMSPA
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	14,10 d	20,25 a**	71,25 b**	59,95 b*	8,65 a**
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	14,70 c	18,90 b*	64,95 c	53,25 c	7,70 a*
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	14,90 c*	18,50 b	73,95 a**	54,60 c	7,55 a
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	15,20 b*	19,25 a*	71,15 b**	60,95 b*	8,05 a*
<i>Bacillus sp</i> - 36	15,20 b*	18,90 b*	71,80 b**	58,10 b*	7,75 a*
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	15,25 b*	19,55 a**	72,95 b**	65,80 a**	7,95 a*
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	15,50 b*	19,35 a*	68,55 c*	64,05 a**	8,20 a*
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	15,55 b*	18,65 b	75,20 a**	57,90 b*	8,35 a*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	15,60 b**	19,45 a**	75,95 a**	66,75 a**	8,15 a*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	16,25 a**	19,35 a*	71,20 b**	66,10 a**	7,85 a*
CV (%)	6,51	7,20	8,72	12,74	13,20
Nematoide- T1	13,70	17,10	60,10	47,00	6,40
Nematoide+ NaCl- T2	14,40	17,70	61,70	53,70	7,10

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott(1974) ao nível de 5% de probabilidade.

* Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para a testemunha 1.

**Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para as duas testemunhas

As bactérias *B. pumilus*-3, *B. pumilus*- 10 e *P. lentimorbus*-24 incrementaram o peso de matéria fresca da raiz de 20,07%, 18,72% e 20,86%, respectivamente em relação à testemunha 1 e 17,90%, 16,56% e 18,76%, respectivamente, quando comparadas à testemunha 2. Tais rizobactérias propiciaram maior peso em relação ao peso proporcionado pelos demais isolados bacterianos (TABELA 1).

As bactérias *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24, *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*-76 proporcionaram aumento do peso da matéria fresca da parte aérea de 28,89%, 29,58%, 28,57% e 26,62%, respectivamente, em relação à testemunha 1; e 18,75%, 19,55%, 18,39% e 16,15%, respectivamente, em relação à testemunha 2 e também maior peso desta variável quando comparado com os demais isolados (TABELA 1).

As variáveis número de folhas e peso da matéria seca de parte aérea não apresentaram diferença significativa entre os isolados. Entretanto, para o peso da matéria seca de parte aérea, a bactéria *B. pumilus*-60 revelou aumento desta variável de 26,01% e 17,92%, quando comparada com as testemunhas 1 e 2, respectivamente. Os demais isolados apresentaram variação do aumento do peso da parte aérea seca de 17,41% a 23,35%, em relação à testemunha 1 (TABELA 1).

Dentre as bactérias avaliadas, verificou-se que *P. lentimorbus*-17 aumentou a altura, o diâmetro do pseudocaule, o peso de matéria fresca e seca de parte aérea), e *P. lentimorbus*-24 incrementou a altura, o diâmetro do pseudocaule, o peso de matéria fresca de raiz, o peso de matéria fresca e seca de parte aérea); *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*- 76 promoveram aumento do diâmetro do pseudocaule, peso de matéria fresca e seca de parte aérea). Tais isolados diferiram dos demais isolados e das testemunhas, destacando-se, assim, no desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’. Possivelmente essas rizobactérias produzem substâncias promotoras de crescimento, como auxina e giberelina, já que este é um dos mecanismos de ação dessas bactérias.

Efeitos positivos provocados por *Bacillus* spp. em plantas podem ser devido, em parte, à produção de fitorreguladores vegetais (ARAÚJO *et al.*, 2005; ZHANG e REDDY, 2001). Sabe-se que as rizobactérias são capazes de sintetizar substâncias como as giberelinas e ácido indol-acético (AIA) *in vitro* e na rizosfera de plantas (FREITAS e GERMIDA, 1992). Vonderwell *et al.* (2001) observaram o aumento da concentração de ácido indol-acético (AIA) em plântulas de *Pinus taeda* inoculadas com *B. subtilis* isolado INR7.

Swain *et al.* (2007) observaram efeito positivo de *B. subtilis*, produtora de AIA em tubérculo de inhame. Os autores aplicaram uma suspensão de *B. subtilis* sobre a superfície das plantas, o que resultou em aumento no caule e no comprimento de raízes, na massa fresca do caule e da raiz e do número de brotos em comparação com plantas não inoculadas.

Em outro trabalho, Carvalho *et al.* (2009) testaram 20 isolados de rizobactérias isoladas de várias culturas como promotoras de crescimento de plantas. Dessas, apenas os metabólitos de *B. pumilus* (85-17 e 83-21) e *B. megaterium* (Bary, 1884) (55-16) acarretaram aumento da massa de coleóptilos de trigo quando comparados com meio TSB. Esses dois últimos isolados mais *B. cereus* (Frankland and Frankland, 1887) (56-12) e *B. pumilus* (84-31) também incrementaram o comprimento dos coleóptilos de trigo quando comparados com TSB e com 2,4-D.

Além dos hormônios, algumas rizobactérias são solubilizadoras de fosfato e fixadoras de nitrogênio, como verificado em trabalho realizado por Beneduzi *et al.* (2008), em que se avaliou a diversidade de *Bacillus* e *Paenibacillus* (Ash *et al.*, 1994), fixadores de nitrogênio em diferentes culturas de arroz. O isolado SVPR30, identificado através do sequenciamento do gene como *Bacillus* sp., foi selecionado para experimento em casa de vegetação e apresentou aumentos significativos no comprimento de raízes e parte aérea. Os autores constataram que os grupos encontrados têm a habilidade de fixar nitrogênio, capacidade de produção de AIA e de solubilização de fosfato que resulta no crescimento de plantas.

Com relação ao fator período de imersão das raízes na suspensão de células das rizobactérias, verificou-se que, independente do isolado utilizado, o tratamento das mudas por 120 minutos proporcionou maior altura, peso de matéria fresca da raiz e peso de matéria fresca de parte aérea (TABELA 2).

Os períodos de tempo de imersão das raízes (60 e 120 minutos) proporcionaram maior desenvolvimento das plantas quando comparados com as testemunhas. Este resultado pode ser explicado pelo fato que quanto maior o tempo em contato com as células bacterianas, maior a aderência dessas células às raízes. Dessa maneira, mais rizobactérias estariam aderidas às raízes e, em consequência, maior efeito da promoção de crescimento destas mudas.

Promoção de crescimento de plantas foi observado por Amorim e Melo (2002) quando imergiram sementes de limoeiro-cravo por uma hora em suspensões bacterianas de *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* e *Flavobacterium* sp. (Bergey *et al.*, 1923). Tratamento de sementes de pepino durante 30 minutos em suspensões bacterianas também promoveram maior crescimento destas plantas (LUCON *et al.*, 2008).

TABELA 2. Médias das variáveis altura, diâmetro do pseudocaule (DP), peso de matéria fresca da raiz (PMFR), peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA) e peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ tratadas com isolados de rizobactérias por dois períodos de imersão dois meses após cultivo.

Tempo	Altura	DP	MFR	MFPA	MSPA
120'	15,41 a*	19,15 a**	73,37 a**	61,84 a*	7,96 a*
60'	15,04 b*	19,28 a**	70,02 b**	59,65 b*	8,08 a*
cv (%)	6,51	7,20	8,72	12,74	13,20
Nematoide (T1)	13,70	17,10	60,1	47,0	6,4
Nematoide+Nacl (T2)	14,40	17,70	61,7	53,80	7,1

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

*Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para testemunha 1.

** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para as testemunha 1 e 2.

3.1.2 Variáveis nematológicas

Houve interação significativa entre os isolados bacterianos e períodos de tempo para as variáveis: fator de reprodução, número de galhas, número de massas de ovos, número de ovos por sistema radicular e número de J2 de *M. javanica* por 100 cm³ de solo ($P \leq 0,01$).

Para o fator de reprodução, no tempo de imersão de 120 minutos, as bactérias *B. pumilus*-76, *B. subtilis*-34, *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus*-10 apresentaram redução de 60,34%, 60,12%, 56,38%, respectivamente em relação à testemunha 1. Esses mesmos isolados proporcionaram redução de 38,94%, 53,65%, 53,28%, respectivamente em relação à testemunha 2. As bactérias *B. pumilus*-76, *B. subtilis*-34 e *P. lentimorbus*-69 também diferiram significativamente das demais. No tempo de imersão de raízes em 60 minutos, a bactéria *B. pumilus*-76 apresentou redução de 48,29% e 39,42% em relação às testemunhas 1 e 2, respectivamente. As bactérias *Bacillus* sp.-36, *B. subtilis*-34, *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus*-1 diferiram apenas da testemunha 1 demonstrando redução desta variável de 33,33%, 31,46%, 23,36% e 20,24%, respectivamente. Apenas *B. pumilus*-76 apresentou diferença das demais bactérias mostrando redução superior desta variável (TABELA 3).

No desdobramento do tempo dentro de cada isolado, verifica-se que as bactérias *B. subtilis*-34, *P. lentimorbus*-69, *B. pumilus*-10 promoveram fator de reprodução significativamente inferior quando as mudas foram imersas nas suspensões bacterianas por 120 minutos, com redução de 41,8%, 43% e 28,20%, respectivamente. Já as bactérias *Bacillus* sp.-36, *B. pumilus*-3 e *P. lentimorbus*-24 foram significativamente mais eficientes em reduzir o fator de reprodução no período de imersão de 60 minutos do que de 120 minutos (TABELA 3).

TABELA 3. Médias do fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensões de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	1,27 aA ***	1,66 aA***
<i>Bacillus. sp</i> - 36	2,66 cB	2,14 bA*
<i>Bacillus subtilis</i> -34	1,28 aA***	2,20 bB*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -69	1,40 aA***	2,46 cB*
<i>Bacillus pumilus</i> -1	2,73 cA	2,56 cA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	2,48 cA*	2,63 cA
<i>Bacillus pumilus</i> -10	1,96 bA***	2,73 cB
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	3,36 dB	2,81 cA
<i>Bacillus pumilus</i> -60	2,73 cA	3,02 dA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	3,78 dB**	3,30 dA
Médias	2,36	2,55
CV(%)	21,13	
Nematoide (T1)	3,21	
Nematoide+NaCl (T2)	2,74	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

*Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para testemunha 1.

** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para testemunhas 2.

*** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para as testemunhas 1 e 2.

Observou-se que na imersão das raízes de mudas aos 120 e 60 minutos todos os isolados reduziram o número de galhas quando comparados com as testemunhas. No período de tempo de 120 minutos, a redução proporcionada pelas bactérias *P. lentimorbus*-69 e *P. lentimorbus*-24 foi de 61,33% a 12,83% e 70,43% a 33,34% em relação às testemunhas 1 e 2, respectivamente. Com 60 minutos, essa variação foi de 13,13% a 55,52% e 33,58% a 65,98% para as

bactérias *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus*-10 respectivamente, quando comparadas com as testemunha 1 e 2, respectivamente (TABELA 4).

TABELA 4. Médias do número de galhas de *Meloidogyne javanica* por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	178,70 aA**	401,50 cB*
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	192,70 aA**	206,80 aA**
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	212,10 aA**	237,30 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	225,90 aA**	352,90 cB**
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	258,10 aA**	205,60 aA**
<i>Bacillus</i> sp- 36	277,40 bA**	277,70 bA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	279,80 bA**	235,70 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	298,60 bA**	285,70 bA**
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	317,60 bA**	287,70 bA**
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	402,90 cB*	292,60 bA**
CV (%)	26,74	
Nematoide (T1)	462,20	
Nematoide+NaCl (T2)		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

*Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para testemunha 2.

** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para as testemunhas 1 e 2.

Constatou-se que as bactérias *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*- 10, *B. pumilus*-76 e *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-69 reduziram significativamente o número de galhas por sistema radicular, no tempo de 120 minutos, em relação às demais bactérias. Entretanto, no tempo de 60 minutos

as bactérias de *B. pumilus*- 1 e *P. lentimorbus*-69 apresentaram maior número de galhas, quando comparadas às demais (TABELA 4).

As bactérias *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus*-1 promoveram número de galhas significativamente inferior quando as raízes das mudas foram imersas por 120 minutos, uma vez que a redução causada por *P. lentimorbus*-69 foi de 55,5% em relação à imersão das mudas na suspensão da mesma bactéria por 60 minutos. Já *P. lentimorbus*-24 proporcionou uma redução significativa de 27,8% da mesma variável quando a imersão das raízes durou 60 minutos (TABELA 4).

Todos os isolados diferiram das duas testemunhas, apresentando redução do número de massas de ovos por sistema radicular. No tempo de imersão de 120 minutos, as bactérias *P. lentimorbus*-17 e *P. lentimorbus*-24 apresentaram variação de 79,41% a 48,70% e 79,73% a 49,31%, respectivamente em relação às testemunhas 1 e 2. No período de tempo de 60 minutos, ocorreu variação de 70,98% a 45,98% e 71,57% a 47,08%, para as bactérias *B. pumilus*- 76 e *P. lentimorbus*-69, respectivamente, em relação às testemunhas 1 e 2 (TABELA 5).

No período de tempo de 120 minutos, as bactérias *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*- 69 e *B. pumilus*-76 proporcionaram maior redução de número de massas de ovos por sistema radicular. Já no tempo de 60 minutos as bactérias *B. pumilus*- 3 e *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus* 17, *Bacillus* sp.-36 e *B. subtilis*- 34, *B. pumilus*-60 e *B. pumilus*-76 foram as que apresentaram maior redução dessa variável quando comparadas aos demais isolados.

No desdobramento período de tempo dentro de cada isolado, nota-se que não houve efeito significativo do período de imersão de mudas, com exceção de *P. lentimorbus*-69 que proporcionou uma redução significativa do número de massas de ovos de 44,3% quando as mudas foram imersas por 120 minutos em comparação ao período de tempo de 60 minutos (TABELA 5).

TABELA 5. Médias de número de massas de ovos de *M. javanica* por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensões de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	15,40 aA**	16,60 aA**
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	17,20 aA**	30,90 cB**
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	19,80 aA**	23,00 aA**
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	20,80 bA**	19,50 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	21,70 bA**	24,80 bA**
<i>Bacillus sp.</i> - 36	22,50 bA**	21,60 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	23,00 bA**	21,30 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	23,00 bA**	20,40 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	23,70 bA**	21,20 aA**
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	29,60 cA**	24,70 bA**
Médias	20,87	22,4
CV (%)	28,05	
Nematoide (T1)	57,20	
Nematoide+NaCl (T2)	58,40	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para as testemunhas 1 e 2.

Com relação ao número de ovos por sistema radicular, nota-se que no período de tempo de 120 minutos as bactérias *B. pumilus*- 10, *P. lentimorbus*- 69, *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*-76 apresentaram variação na redução de números de ovos de 38,65%, 56,26%, 59,96% e 60,34%, respectivamente, em relação à testemunha 1 e 28,15%, 48,76%, 53,10% e 53,54%, respectivamente, quando comparadas com a testemunha 2. Essas bactérias

também reduziram o número de ovos quando comparadas às demais bactérias. Nesse período de tempo, as bactérias *B. pumilus*- 3 e *P. lentimorbus*- 24 diferiram da testemunha 2, apresentando aumento do número de ovos (TABELA 6). Provavelmente, em maior tempo de imersão de raízes de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ em suspensões bacterianas, ocorreu uma degradação dos metabólitos tóxicos aos nematoides produzidos por essas bactérias. Aumento do número de ovos por grama de raiz também foi observado por Coimbra *et al.* (2005) quando avaliaram noventa e dois isolados de rizobactérias no controle de *M. javanica* em plantas de tomate. Esses autores observaram que apenas três isolados aumentaram o número de ovos por grama de raiz.

No período de imersão de 60 minutos, a bactéria *B. pumilus*- 76 apresentou redução do número de ovos de 48% e 39%, respectivamente, quando comparada com as testemunhas 1 e 2, e também diferiu das demais bactérias, apresentando redução desta variável (TABELA 6).

No desdobramento do tempo dentro de cada isolado, verificou-se que as bactérias *B. pumilus*-10, *B. subtilis*-34 e *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus*-76 proporcionaram maior redução de 27,90%, 43%, 41,79% e 23,49%, respectivamente, do número de ovos no tempo de imersão de 120 minutos, em relação ao período de imersão das raízes por 60 minutos. As bactérias *B. pumilus*- 3, *P. lentimorbus*-24 e *Bacillus* sp.-36 apresentaram redução de 16,41%, 12,5% e 19,55%, respectivamente, desta variável, quando a imersão das raízes durou 60 minutos (TABELA 6).

TABELA 6. Médias de número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensões de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	3820,10 aA***	4993,30 aA***
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	3856,20 aA***	6625,70 bB*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	4212,70 aA***	7389,40 cB*
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	5908,10 bA***	8195,40 cB
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	7469,03 cA*	7916,20 cA
<i>Bacillus</i> sp.- 36	8004,20 cB	6438,90 bA*
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	8193,60 cA	7691,00 cA*
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	8207,50 cA	9066,70 dA
<i>Bacillus pumilus</i> -3	10108,90 dB**	8449,80 cA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	11344,80 dB**	9926,70 dA
CV(%)	21,13	
Nematoide (T1)	9631,30	
Nematoide+NaCl (T2)	8222,70	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

*Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para testemunha 1.

** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para a testemunha 2.

*** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para as testemunhas 1 e 2.

A imersão das raízes de mudas nas suspensões das bactérias *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-10, *B. pumilus*-76, *P. lentimorbus*-17 e *P. lentimorbus*- 69 por 120 minutos reduziu o número de J2 de *M. javanica* em 39,34%, 69,60%, 40,39%, 35,46%, respectivamente, em relação à imersão das mudas em solução salina e, 74,20%, 72,50%, 46,09% e 41,64%, 54,31%, respectivamente, em comparação à imersão de mudas em solução salina mais

nematoide. Desses isolados, *B. pumilus*-10 promoveu significativamente maior redução do número de J2 em relação às demais bactérias (TABELA 7). No período de imersão de 60 minutos, as bactérias *B. pumilus*-76 e *B. subtilis*-34 apresentaram redução desta variável de 52,30% e 39,64% em relação à testemunha 1 e 56,87% e 45,42% à testemunha 2 e também apresentaram diferença das demais bactérias (TABELA 7).

As bactérias *P. lentimorbus*-69, *B. pumilus*-1, *P. lentimorbus*-17, *B. pumilus*-3 e *P. lentimorbus*-24 propiciaram número de J2 de *M. javanica* inferior quando as raízes das mudas foram imersas por 120 minutos em comparação ao período de imersão de 60 minutos. A imersão das raízes na suspensão de *P. lentimorbus*- 69 por 120 minutos causou uma redução de 49,80% no número de J2 de *M. javanica* quando comparado à imersão das mudas por 60 minutos. Contudo, a bactéria *B. subtilis*-34 proporcionou uma redução significativa de 30,53% da mesma variável quando a imersão das raízes ocorreu por 60 minutos (TABELA 7).

TABELA 7. Médias de juvenis de segundo estágio de *M. javanica* por 100cm³ de solo cultivado com mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	20,40 aA**	50,20 bA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	33,90 bA**	67,50 bB
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	40,00 bA**	32,00 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	40,70 bA**	64,60 bB
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	43,30 bA**	67,70 bB
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	53,80 cA	76,60 cB
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	57,90 cA	82,90 cB
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	58,30 cB	40,50 aA**
<i>Bacillus</i> sp- 36	71,10 dA	60,20 bA
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	82,10 dA	84,30 cA
CV (%)	33,49	
Nematoide (T1)	67,10	
Nematoide +NaCl (T2)	74,20	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

*Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para testemunha 2.

** Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade para as duas testemunhas 1 e 2.

Pelos resultados, pôde se observar que as bactérias *P. lentimorbus*-17 reduziu o número de galhas, de massas de ovos e de juvenis de segundo estágio; *B. pumilus*-10 diminuiu o fator de reprodução, número de galhas e de juvenis de segundo estágio; *B. pumilus*-76 propiciou redução de todas as variáveis nematológicas); *B. subtilis*-34 proporcionou redução do fator de reprodução, do número de ovos e de juvenis de segundo estágio); *P. lentimorbus*-69 reduziu fator de reprodução, número de massas de ovos e de

juvenis de segundo estágio. Esses resultados demonstram que tais isolados são eficientes no controle de *M. javanica*. Esse fato pode ser explicado pela ação direta dessas bactérias sob a população de *M. javanica*, através da produção de antibióticos e metabólitos tóxicos, ou pela ação indireta através da modificação dos exsudatos radiculares, afetando o desenvolvimento de cada etapa do ciclo de vida desse nematoide. De acordo com Oostendorp e Sikora (1990), as rizobactérias podem atuar de forma direta sobre os nematoides por meio de toxinas e antibióticos que inibem a eclosão e a mobilidade dos juvenis de segundo estágio, reduzindo a invasão dos nematoides nas raízes de plantas. De forma indireta, pode ocorrer o desencadeamento de reações na planta que impedem a formação de células gigantes ou acarretam modificações dos exsudatos radiculares, fazendo com que não sejam reconhecidos pelos nematoides e deixando de estimular o movimento e a penetração nas raízes.

Resultados positivos no controle de nematoides têm sido relatados por diversos autores. Coimbra *et al.* (2005) que testaram 92 isolados bacterianos de diversas plantas em tomateiro em dois experimentos em épocas diferentes em casa de vegetação. Desses, 34 reduziram o número de galhas por grama de raiz quando comparados com a testemunha e 44 foram eficientes na redução do número de ovos por grama de raiz quando comparados com a testemunha.

Em trabalho realizado por Khan *et al.* (2008), utilizando diferentes concentrações de filtrado e suspensão bacteriana de *Paenibacillus polymyxa*, verificou-se que com o aumento das concentrações dos filtrados e suspensão bacterianas houve uma redução no número de galhas de *M. incognita* em tomateiro e aumento do crescimento das plantas. Redução de galhas também foi observado por Dawar *et al.* (2008) quando testaram isolados de *Bacillus* spp. em plantas de feijão caupi e fradinho.

No desdobramento do fator tempo dentro de cada isolado observou-se que, de modo geral, o tempo 120 minutos promoveu maior redução de quase todas as variáveis. Isso pode ser explicado pelo maior tempo de contato das raízes com as células bacterianas, o que pode ter proporcionado maior número

de células aderidas às raízes e assim maior produção de antibióticos e metabólitos que têm efeito sobre *M. javanica*.

Resultados positivos no controle de *M. javanica* também foram obtidos por Freitas *et al.* (2005) quando imergiram por 12 horas sementes de tomateiro em suspensões de rizobactérias isoladas da rizosfera de tomateiro. Imersão de sementes de quiabo e feijão-da-china por vinte quatro horas em suspensões de células de *B. thuringiensis* reduziu o número de galhas e massas de ovos de *M. javanica*, além de promover o crescimento das plantas (KHAN *et al.*, 2010).

Souza Júnior *et al.* (2010) realizaram microbiolização de sementes de arroz, em suspensões bacterianas durante 30 minutos no controle de *Meloidogyne graminicola* e *Rhizoctonia solani*. Os autores verificaram o controle das duas doenças e aumento do crescimento das plantas.

Neste trabalho observou a inconsistência de resultados de isolados de mesmas espécies de bactérias, *P. lentimorbus*-17 e 24 e *B. pumilus*- 76 e 1 tanto no desenvolvimento de mudas de bananeira quanto no controle de *M. javanica*. Este fato pode ser explicado pela ocorrência de variabilidade intraespecífica. É importante salientar que os isolados testados foram oriundos de rizosfera de bananeira ‘Prata-Anã’ de diferentes municípios do Norte de Minas Gerais. As bactérias *B. pumilus*- 76 e *B. pumilus*-1 foram obtidos dos municípios de Nova Porteirinha e Janaúba, respectivamente, onde ocorrem variáveis no tipo de solo, no manejo nutricional, manejo de doenças e pragas e manejo de irrigação. Estas variações podem alterar os exsudatos das raízes e assim selecionar bactérias adaptadas a tais condições. Conforme Schlöter *et al.* (2000), vários fatores podem influenciar esta diversidade intraespecífica. Dentre eles, separação espacial, diferenças ambientais e interações bactéria-hospedeiro. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira *et al.* (2007) quando testaram metabólitos de *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. thurgiensis*, *E. cloace* (Jordan, 1980) Hormaeche e Edwards, 1960 e *P. macerans* (Scharfing, 1905) *in vitro* e em mudas de café no controle de *Meloidogyne exigua* (Goeldi, 1889). Esses autores observaram que bactérias *B. pumilus* (58-

16), (62-20) e (84-20) reduziram o número de galhas e ovos de *M. exígua*, mas *B. pumilus* (84-20) não promoveu redução destas variáveis, quando comparada com a testemunha. Manzano *et al.* (2009) verificaram, por meio de métodos moleculares RAPD/PCR, alta variabilidade intraespecífica de *B. cereus* e *B. thurgiensis*.

3.2 Efeito de diferentes períodos de imersão de raízes de bananeira sobre o desenvolvimento de mudas de bananeira

Observou interação significativa ($P \leq 0,01$) entre os fatores isolados bacterianos e período de tempo de imersão de raízes de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ para as variáveis: altura, peso fresco da raiz, peso seco da raiz, peso fresco da parte aérea e peso seco da parte aérea. Essas mesmas variáveis agronômicas também diferiram estatisticamente da testemunha 1 (Absoluta) e/ou da testemunha 2 (NaCl) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Para a variável altura, no tempo de imersão de raízes de 120 minutos, apenas as bactérias *P. lentimorbus-17*, *P. lentimorbus-69* e *B. pumilus-60* apresentaram incremento significativo em relação à testemunha 1, sendo este incremento de 24,78%, 15,94% e 22,15%, respectivamente. Essas bactérias também apresentaram incremento superior desta variável quando comparadas com as demais bactérias. No tempo de imersão de mudas de 60 minutos, a bactéria *B. pumilus-60* apresentou altura inferior em relação às duas testemunhas. Porém, as bactérias *B. pumilus-1* e *P. lentimorbus-17* e *P. lentimorbus-24* demonstraram aumento da altura, de 22,15%, 18,56%, 18,56%, respectivamente, em relação à testemunha 1. Nesse mesmo tempo, as bactérias *B. pumilus-1*, *B. pumilus-3* e *P. lentimorbus-17* e *P. lentimorbus-24* revelaram significativamente maior altura em relação às demais bactérias (TABELA 8). No desdobramento do fator tempo dentro de cada isolado, verifica-se que *B. pumilus-60* proporcionou maior altura quando as mudas foram imersas por 120 minutos, enquanto *B. pumilus-1* proporcionou maior altura de plantas quando a imersão foi realizada por 60 minutos (TABELA 8).

TABELA 8. Médias da altura de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	13,00 bA	13,11bA
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	13,33 bA	14,22aA
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	13,55 bA	13,00bA
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	13,77 bA	15,33 aB*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	13,88 bA	14,88 *aA
<i>Bacillus</i> sp- 36	14,22 bA	13,66 bA
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	14,33 bA	13,33 bA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	14,55 aA*	13,33 bA
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	15,33 aB*	12,11 bA**
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	15,66 aA*	14,88 aA*
CV(%)	10,12	
Absoluta (T1)	12,55	
NaCl (T2)	14,22	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott- Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

*Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para a testemunha 1.

**Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna, para a testemunha 2.

Esse fato pode estar correlacionado com o balanço hormonal. Dessa forma, quanto maior for o tempo de contato das células bacterianas com as raízes, maior o número de tais propágulos aderidos às raízes e, por conseguinte, mais alta a quantidade de hormônios sintetizados pela bactéria *B. pumilus*-60, que proporcionou maior altura da planta. Entretanto, para a bactéria *B. pumilus*- 1, esse maior tempo, possivelmente, inibe a produção desses hormônios. Patten e Glick (1996) sugerem que a entrada adicional de

AIA microbiano pode modificar a auxina endógena para nível ótimo ou acima do ótimo, resultando na indução ou inibição de crescimento da planta.

O peso de matéria fresca da raiz aos 120 minutos de tratamento de mudas foi estatisticamente superior em relação à testemunha 1, quando se empregou *B. pumilus*-10. No entanto, quando as mudas foram tratadas por 60 minutos, *B. pumilus*-1 proporcionou maior peso de matéria fresca da raiz em relação às duas testemunhas. O aumento foi de 26,19% e 25,20% em relação às testemunhas 1 e 2, respectivamente. Não houve diferença estatística entre as rizobactérias no período de tratamento de mudas de 60 minutos. Todavia, no período de imersão de raízes por 120 minutos as bactérias *B. pumilus*-1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *B. pumilus*-60, *B. subtilis*-34 e *Bacillus* sp.-36 apresentaram diferença significativa em relação às demais rizobactérias (TABELA 9).

No desdobramento do tempo dentro de cada isolado, observou-se que as bactérias *B. subtilis*-34 e *B. pumilus*-1, apresentaram maior peso de matéria fresca da raiz aos 120 e 60 minutos, respectivamente (TABELA 9). Possivelmente, *B. subtilis*-34 produz maior concentração de hormônios como auxinas em maior tempo de imersão de raízes. Já para *B. pumilus*-1, esse maior tempo pode promover uma menor concentração de auxina ou também pode produzir elevada concentração e, em consequência, causar um efeito inibitório no crescimento das mudas de bananeira.

TABELA 9. Médias do peso de matéria fresca da raiz (PMFR) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	40,44 bA	43,00aA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	42,88 bA	45,33aA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -69	43,00 bA	44,55aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	43,55 bA	46,11aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	46,11aB	53,00 aA**
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	46,88 aA	46,22aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	47,44 aA	46,77aA
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	49,22 aA	42,22aB
<i>Bacillus</i> sp. – 36	49,88 aA	47,33aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	50,00 aA*	46,44aA
CV(%)	13,67	
Absoluta (T1)	42,00	
NaCl (T2)	42,33	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5%.

*Significativo pelo teste de Dunett a 5% , na coluna, para testemunha 1.

** Significativo pelo teste de Dunett a 5%, na coluna, para as testemunhas 1 e 2.

Para a variável peso de matéria seca da raiz, concluiu-se que quando as raízes das mudas foram imersas por 120 minutos nas suspensões bacterianas não houve efeito significativo dos isolados em relação às testemunhas. No entanto, quando se compara entre os isolados bacterianos, percebe-se que *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *B. pumilus*-60, *B. pumilus*-76, *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24 e *B. subtilis*-34 proporcionaram peso significativamente superior em comparação com os demais isolados. No tempo de 60 minutos, as bactérias *B. pumilus*-60 e *P. lentimorbus*- 69 apresentaram peso inferior ao das

testemunhas. Esses isolados também diferiram do restante das bactérias, que apresentaram peso superior desta variável (TABELA 10).

No desdobramento do fator tempo dentro de cada isolado, observa-se que *B. pumilus*-60 proporcionou maior peso de matéria seca da raiz quando as raízes das mudas foram imersas por 120 minutos. Porém, para *B. pumilus*-1 o desenvolvimento foi maior no período de imersão de 60 minutos (TABELA 10).

TABELA 10. Médias do peso de matéria seca da raiz (PMSR) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensões de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	4,22 bA	3,66 bA**
<i>Bacillus pumilus</i> -1	4,22 bB	5,22 aA
<i>Bacillus</i> sp.- 36	4,33 bA	5,00 aA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -17	4,88 aA	5,11 aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	4,88 aA	4,88 aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	5,00 aA	4,66 aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	5,11 aA	4,66 aA
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	5,22 aA	5,33 aA
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	5,22 aA	5,44 aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	5,33 aA	3,88 bB**
CV (%)	16,66	
Absoluta (T1)	4,66	
NaCl (T2)	5,00	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott- Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade.

**Significativo pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, na coluna para a testemunha 2.

No tempo de imersão de raízes 120 minutos, as bactérias *B. pumilus*-10, *Bacillus* sp-36 e *P. lentimorbus*- 69 apresentaram aumento de peso de matéria fresca de parte aérea de 19,36%, 39,89% e 22,71%, respectivamente, quando comparadas com as plantas não tratadas. A bactéria *B. pumilus*- 76 revelou peso inferior desta variável quando comparada com a testemunha 2, e *Bacillus* sp.-36 apresentou maior peso em relação às demais bactérias. No tempo 60 minutos, as bactérias *B. pumilus*-1, *B. pumilus*-10, *B. pumilus*-76 e *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24, respectivamente, aumentaram o peso de matéria fresca de parte aérea de 22,99%, 22,71%, 19,37%, 31,57% e 19,94%

em comparação à testemunha 1. Entretanto, as bactérias *B. pumilus*-60 e *P. lentimorbus*-69 apresentaram peso inferior ao da testemunha 2 e das demais bactérias (TABELA 11).

As suspensões bacterianas de *B. pumilus*-60, *P. lentimorbus*-69 e *Bacillus* sp.-36 foram mais eficientes na produção de matéria fresca de parte aérea quando ficaram em contato com as raízes por 120 minutos. Já as bactérias *B. pumilus*-76, *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24 e *B. pumilus*-1 propiciaram maior produção de matéria fresca quando as mudas foram tratadas por 60 minutos (TABELA 11).

TABELA 11. Médias do peso de matéria fresca de parte aérea de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensão de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	38,11 cB**	47,88 aA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	41,55 cB	52,77 aA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> -24	42,33 cB	48,11 aA*
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	42,33 cB	49,33 aA*
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	45,30 cA	47,11 aA
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	45,40 cA	43,88 aA
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	47,77 bA	37,55 bB**
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	47,88 bA*	49,22 aA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	49,22 bA*	35,11 bB**
<i>Bacillus</i> sp. – 36	56,11 aA*	45,44 aB
CV(%)	13,44	
Absoluta (T1)	40,11	
NaCl (T2)	48,08	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5%.

*Significativo pelo teste de Dunett a 5% para testemunha 1.

** Significativo pelo teste de Dunett a 5% para a testemunha 2.

Para a variável peso de matéria seca de parte aérea, no tempo de imersão de raízes de mudas por 120, as bactérias *B. pumilus*-10, *B. subtilis*-34 e *Bacillus* sp.-36 diferiram significativamente das duas testemunhas. O aumento do peso dessa variável foi de 38,56% e 20% em relação às testemunhas 1 e 2, respectivamente. Além dessas bactérias, *B. pumilus*-60 também diferiu significativamente das demais bactérias. No tempo de 60 minutos, a bactéria *P. lentimorbus*-69 apresentou peso inferior dessa variável ao da testemunha 2. Entretanto, as bactérias *B. pumilus*- 1, *B. pumilus*-3, *B. pumilus*-10, *P. lentimorbus*-76, *Bacillus* sp-36 e *P. lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24 apresentaram aumento do peso de matéria aérea seca de 33,26%, 25,63%, 25,63%, 25,63%, 30,71%, 28,17% e 23,09%, respectivamente em relação à testemunha 1. Essas bactérias mais *B. pumilus*-60 e *B. subtilis*-34 apresentaram maior peso desta variável quando comparadas com as demais bactérias (TABELA 12).

No desdobramento do tempo dentro de cada isolado, as rizobactérias *B. subtilis*-34, *B. pumilus*-60 e *P. lentimorbus*-69 apresentaram maior peso da matéria seca da parte aérea, quando as mudas foram tratadas por 120 minutos (TABELA 12). O que pode ser explicado pelo maior tempo de contato do sistema radicular com as células bacterianas e maior aderência dessas nas raízes com conseguinte produção de giberelinas.

As variáveis analisadas número de folhas, altura e diâmetro não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$).

TABELA 12. Médias de peso de matéria seca de parte aérea (PMSPA) de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, imersas em suspensões de células de diferentes isolados de rizobactérias, após 60 dias de cultivo.

Isolados	Tempo (min)	
	120'	60'
<i>Bacillus pumilus</i> - 76	5,11 bA	5,66 aA*
<i>Bacillus pumilus</i> - 1	5,11 bA	5,77 aA*
<i>Bacillus pumilus</i> - 3	5,33 bA*	5,44 aA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 24	5,44 bA*	5,33 aA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 17	5,44 bA*	5,55 aA*
<i>Paenibacillus lentimorbus</i> - 69	5,55 bA*	3,88 bB**
<i>Bacillus pumilus</i> - 60	5,66 aA*	4,88 aB
<i>Bacillus pumilus</i> - 10	6,00 aA***	5,44 aA*
<i>Bacillus subtilis</i> - 34	6,00 aA***	5,00 aB
<i>Bacillus</i> sp. – 36	6,00 aA***	5,44 aA*
CV(%)	13,75	
Absoluta (T1)	4,33	
NaCl (T2)	5,00	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste Scott-Knott (1974) ao nível de 5%.

*Significativo pelo teste de Dunett a 5% , na coluna, para testemunha 1.

** Significativo pelo teste de Dunett a 5%, na coluna, para a testemunha 2.

***Significativo pelo teste de Dunett a 5%, na coluna, para as testemunhas 1 e 2.

Neste trabalho, observou-se que, no tempo de 60 minutos, as bactérias *B. pumilus*-60 proporcionaram peso inferior de altura e matéria fresca da parte aérea, o peso seco da raiz e matéria seca de parte aérea, não diferiram das testemunhas e *P. lentimorbus*- 69 causaram redução no peso da matéria seca de raiz e peso de matéria fresca de parte aérea, o peso seco de parte aérea e altura não diferiram das testemunhas. Possivelmente, este período de 60 minutos não foi suficiente para que essas bactérias aderissem às raízes. Assim, provavelmente não houve interação das rizobactérias com as raízes das mudas

de bananeira ‘Prata-Anã’ e, conseqüentemente, não houve produção de hormônios de crescimento. Resultados semelhantes foram obtidos por Soterro *et al.* (2006) quando testaram rizobactérias na promoção de crescimento de alface. Observaram que os isolados *Pseudomonas* sp- 91 e 856A propiciaram peso inferior da massa seca da parte aérea das plantas em que foram inoculados, quando comparados com a testemunha.

Neste trabalho, as bactérias que se destacaram no desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ no tempo de imersão de suas raízes por 120 minutos foram *P. lentimorbus*-69 (incrementou altura, peso de matéria fresca e seca de parte aérea); *B. pumilus*-10 (aumentou o peso de matéria fresca da raiz e do peso de matéria fresca e seca de parte aérea); *P. lentimorbus*-17, *B. pumilus*-60 (propiciaram o aumento de altura e do peso de matéria seca de parte aérea) e *Bacillus* sp.- 36 (proporcionou incremento de peso de matéria fresca e seca de parte aérea). Já no tempo de imersão de raízes por 60 minutos, foram *B. pumilus*- 1 (promoveu o aumento da altura, do peso de matéria fresca de raiz, do peso de matéria fresca e seca de parte aérea); *P. lentimorbus*-17 e 24 (proporcionaram incremento de altura, do peso de matéria fresca e seca de parte aérea), *B. pumilus*-10 e *B. pumilus*- 76 (promoveram incremento de peso de matéria fresca e seca de parte aérea). Esses resultados sugerem que essas bactérias devem sintetizar hormônios de crescimento como auxinas que afetam a morfologia das raízes, aumentando o comprimento e o número de pelos radiculares e por conseguinte o desenvolvimento de plantas (BARBIERI *et al.*, 1996). Vários autores relatam que *Bacillus* spp. e *Paenibacillus* spp. produzem hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas (ARAÚJO, 2005; MOTA *et al.*, 2008; SMITH, 2005). Em pesquisa realizada por Ali *et al.* (2009), os autores verificaram que *B. pumilus*, *B. subtilis* e *B. megaterium* promoveram o crescimento de *Vigna radiata* (L) R. Wczek. Consoante esses autores, essa promoção do crescimento das plantas deve-se à produção de auxina. Carvalho *et al.* (2009) também verificaram promoção de crescimento do coleóptilo de trigo por *B. pumilus*. Segundo autores, essa capacidade de promoção de crescimento das plantas pode ter ocorrido em função de esse

isolado apresentar capacidade de produzir giberelinas e AIA. Em trabalho realizado por Holl *et al.* (1988) foi verificado que a promoção de crescimento de plantas por *Bacillus polymyxa* estava relacionada à produção de giberelinas.

Promoção de crescimento de plantas por rizobactérias tem sido observada por vários autores. Máfia *et al.* (2009) avaliaram três isolados de rizobactérias promotoras de crescimento na microbiolização de estacas de clones de eucalipto e comprovaram que todos os isolados aumentaram o enraizamento, a biomassa radicular, e controlaram *Cylindrocladium* spp. (Morgan, 1892). Harthmann *et al.* (2009) testaram dez isolados de rizobactérias no tratamento de cebola na promoção de crescimento de plantas. Desses, os isolados de *Pseudomonas* spp.-W5 e *Bacillus cereus*- UFV 040 apresentaram aumento do diâmetro do pseudocaule, do número de folhas e de matéria seca de parte aérea, diferindo da testemunha. Para altura e diâmetro dos bulbos, apenas o isolado UFV 040 apresentou maior incremento quando comparado com os demais tratamentos e com a testemunha.

Neste trabalho os resultados mostram que isolados diferentes de uma mesma espécie requerem tempos diferentes para promoverem o crescimento das mudas de bananeira. Isto provavelmente deve-se à variabilidade intraespecífica presente nesses isolados. É importante ressaltar que isolados de uma mesma espécie foram provenientes de rizosfera de bananeira ‘Prata-Anã’ de diferentes municípios que apresentam variação quanto ao tipo de solo, manejo de irrigação, manejo de doenças e pragas e manejo nutricional. Tais variações podem selecionar bactérias com requerimentos diferentes. Em consequência desses fatores, possivelmente, alguns isolados produziram maior quantidade de hormônios de crescimento em menor tempo, enquanto outros produziram maior quantidade em um maior período de tempo. Segundo Schlöter *et al.* (2000), vários fatores podem influenciar esta diversidade intraespecífica, entre eles, a separação espacial, diferenças ambientais e interações bactéria- hospedeiro. Variabilidade intraespecífica têm sido encontrada em bactérias (JONGHE *et al.*, 2007; MANZANO *et al.*, 2009).

Carvalho *et al.* (2009) testaram vários isolados de rizobactérias procedentes de diferentes culturas na promoção de crescimento de feijoeiro. Os autores verificaram que alguns isolados de *B. pumilus* promoveram o aumento do comprimento do coleóptilo.

4 CONCLUSÕES

As bactérias *Paenibacillus lentimorbus*-17, *P. lentimorbus*-24, *B. subtilis*-34, e *B. pumilus*-76 promovem o crescimento das mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ infectadas com *Meloidogyne javanica*.

As bactérias *B. pumilus* -10, *P. lentimorbus*-17, *Bacillus* sp.-34, *P. lentimorbus*-69 e *B. pumilus* -76 controlam *M. javanica* em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’.

A imersão de raízes de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ em suspensões bacterianas por 120 minutos promove maior desenvolvimento e controle de *M. javanica* .

Maior desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ ocorre quando o tratamento das mesmas é feito por 60 minutos com as bactérias *B. pumilus*-1, *B. pumilus*-10 *P. lentimorbus*- 17, *P. lentimorbus*-24 e *P. lentimorbus*-76, e por 120 minutos com as bactérias *B. pumilus*-10 *B. lentimorbus*-17, *Bacillus* sp.-36, *B. pumilus*-60 e *P. lentimorbus*- 69 .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI B.; *et al.* Quantification of indole-3-acetic acid from plant associated *Bacillus* spp. and their phytostimulatory effect on *Vigna radiata* (L.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 519-526, 2009.

AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. Ação antagonica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, p. 565-568, 2002.

ARAÚJO, F. F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p. 1639-1645, 2005.

BARBIERI, P. *et al.* Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiology Letters**, v. 36, p. 87-90, 1986.

BENEDUZI, A. *et al.* Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen- fixing Bacilli isolated from Rice fields in South Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 39, p. 311-320, 2008.

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

CARVALHO, D. D. C. *et al.* Rizobactérias produtoras de promotores do crescimento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, p. 338-341, 2009.

COFCEWICZ, E. T. *et al.* Ocorrência de *Meloidogyne* spp. em áreas produtoras de banana no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 23, 2001, Piracicaba. **Anais....Piracicaba (SP): SBN; Garça- SP: FAEF**, 2001, p. 112.

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

COSTA, D.C. Doenças causadas por nematoides. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana. Fitossanidade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. P. 66-77, 2000.

DAWAR, S.; TARIQ, M.; ZAKI, M. J. Application of *Bacillus* species in controlo f *Meloidogyne javanica* (TREUB) Chitwood on cowpea and mash bean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, p. 439-444, 2008.

DIAS, M. S. C... *et al.* Ocorrência de nematoides associados a bananeira na região norte de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 499-500, 2001.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, v. 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000, p. 255-258.

FREITAS, J. R.; GERMIDA, J. J. Growth promotion of winter wheat by fluorescent pseudomonads under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 24, p. 1127-1135, 1992.

FREITAS, L. G. *et al.* **Controle Biológico de Nematóides: Estudo de casos**, 2000. Disponível em:http://www.rizoflora.com.br/arquivos_internos/arquivos/manejo_integrado.pdf. Acesso em 11 de janeiro de 2010.

FREITAS, L. G. *et al.* Isolamento e Seleção de Rizobactérias para controle de nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura de tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, p. 215-220, 2005.

HARTHMANN, O. E. L. *et al.* Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 2533-2538, 2009.

HOLL, F. B *et al.* Response of crested wheatgrass (*Agropyron crystatum* L.) perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and White clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, p. 19-24, 1988.

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

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

JONGHE, V. *et al.* Intraspecific genotypic diversity of *Bacillus* species from raw Milk. **International Dairy Journal**, v. 18, p.496-505, 2008.

KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial control of plant parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 22, p. 621-631, 1990.

KHAN, M. Q. *et al.* Evaluation of *Bacillus thurgiensis* isolates against root-knot nematodes following seed application in orka na mungbean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, p. 2903-2910, 2010.

KHAN, Z. *et al.* A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppress root-knot nematode. **Bioresource Tecnology**, v. 99, p. 3016-3023, 2008.

LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **HortScience**, v. 32, p. 188-192, 1997.

LUCON, C. M. M.; MELO, I. S. Seleção de rizobactérias antagônicas a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, em tubérculos de batata. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, p. 132-136, 1999.

MAFIA, R.G. *et al.* Microbiolização e interação entre rizobactérias promotoras do crescimento e clones de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, p.789-797, 2009.

MANZANO, M. *et al.* Molecular methods to evaluate biodiversity in *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains from different origins. **Food Microbiology**, v. 26, p. 259-264, 2009.

MOREIRA, R. Como conviver com os nematóides em bananeiras. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, 1995, Caldas Novas - GO. **Anais.** 1995, p.186-190.

MOTA, F. F.; GOMES, E. A.; SELDIN, L. Auxin production and detection of the gene coding for the Auxin Efflux Carrier (AEC) protein in *Paenibacillus polymyxa*. **The Journal of Microbiology**, v. 46, p. 257-264, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium from rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, D.F. *et al.* Selection of rhizobacteria able to produce metabolites active against *Meloidogyne exigua*. **European Journal Pathology**, v. 19, p. 477-479, 2007.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R. A. *In vitro* interrelation ships Between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. **Review Nematology**, v. 14, p. 269-274, 1990.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 207-230, 1996.

POINAR Jr, G. O.; H. JANSSON (eds.). **Diseases of nematodes**. v. 1 CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988.149 p.

SCHLOTTER, M.; LEBUHN, T.; HARTMANN, A. Ecology and evolution of bacterial microdiversity. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, p. 647-660, 2000.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 11, p. 502-512, 1974.

SOTERRO, A. N. *et al.* Rizobactérias e alfaca: Colonização Rizosferica, Promoção de crescimento e controle Biológico. **Revista Brasileira Ciência dos Solos**, Viçosa, v. 30, p. 225-234, 2006.

SOUZA JÚNIOR; I. T. *et al.* Biocontrole da queima-das-bainhas e do nematoide-das-galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. **Pesquisa Agropécuaria Brasileira**, Brasília, vol. 45, p. 1259-1267, 2010.

SWAIN, M. R., NASKAR, S. K., RAY, R. C. Indole-3-acetic acid production and effect on sprouting of Yam (*Dioscorea rotundata* L.) minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cowdung microflora. **Polish Journal of Microbiology**, v. 56, p. 103–110, 2007.

TAYLOR, H. L e SASSER, J. N. **Biological, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.)**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, p. 111, 1978.

VONDERWELL, J. D.; ENEBAK, S. A.; SAMUELSON, L. J. Influence of two growth promoting rhizobacteria on loblolly pine root respiration and AIA activity. **Forest Science**, v. 47, p.197-202, 2001.

ZEM, A. C.; BARREIRA, J. G e TEIXEIRA, L. S. **Nematoides associados a bananeiras do estado do Ceará**, 1980. Disponível em:
<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/nbonline/ol%2004u/119-126%20pb.pdf>.
Acesso em: 10 de dezembro de 2010.

ZEM, A. C.; VENTURA, J.A; NOBREGA, A. C. Nematoides associados a diferentes cultivares de bananeira em Viana, ES. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 11-22, 1984.

ZHANG, S.; REDDY, M.S. Lack of induced systemic resistance in peanut to late leaf spot disease by plant growth- promoting rhizobacteria and chemical elicitors. **Plant Disease**, v. 85, p. 879-884, 2001.