

RESEARCH/INVESTIGACIÓN

RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* E MAL DO PANAMÁ EM BANANEIRA¹

R.C.F. Ribeiro² *, V.P. Campos³, A.A. Xavier², L. S. Rocha², H.B. Ribeiro²; F. M. Aguiar², R. M. Souza³, E. H. Mizobutsi² & C. R. Dias-Arieira⁴

¹ Projeto aprovado pela FAPEMIG, ² Universidade Estadual de Montes Claros, Departamento de Ciências Agrárias, Janaúba, MG, Brasil, Caixa Postal 91, CEP: 39440000. Tel. 0553838211378, Janaúba, MG. ³ Universidade Federal de Lavras, Departamento de Fitopatologia, CEP: 37200000, Lavras, MG. ⁴ Universidade Estadual de Maringá, Campus Regional de Umuarama, Estrada da Paca s/n, B. São Cristóvão, CEP: 87507-190, Umuarama, PR. * Autor para correspondência: regina.ribeiro@unimontes.br, Bolsista BIPDT/FAPEMIG. *Corresponding author: regina.ribeiro@unimontes.br.

ABSTRACT

Ribeiro, R. C. F., V. P. Campos, A. A. Xavier, L. S. Rocha, H. B. Souza, F. M. Aguiar, R. M. Souza, E. H. Mizobutsi and C. R. Dias-Arieira. 2012. Control of *Meloidogyne javanica* and Panama disease with rhizobacteria. *Nematropica* 42:218-226.

The aims of the work were to obtain rhizobacterium isolates from banana plantation of Minas Gerais State, Brazil, and to evaluate the effect of bacteria on mortality and motility of *Meloidogyne javanica* second stage juveniles (J₂), *in vitro*. In three greenhouse trials it was evaluated the treatment effect of banana plantlets with 45 bacterial isolates on: nematological variables, Panama disease severity and vegetative variables. Six out of 86 isolates provided more than 85% of J₂ mortality and three above 80% of immobility. In the greenhouse ten isolates reduced the number of J₂ and/or the number of galls and/or severity of the Panama disease and/or increased the dry matter. The isolates were identified as RZ-17 (*Paenibacillus lentimorbus*-17), RZ-24 (*P. lentimorbus*-24), RZ-1 (*Bacillus pumilus*-1), RZ-3 (*B. pumilus*-3), RZ-10 (*B. pumilus*-10), RZ-60 (*B. pumilus*-60), RZ-69 (*B. pumilus*-69), RZ-76 (*Bacillus pumilus*-76), RZ-34 (*B. subtilis*-34), and RZ-36 (*Bacillus* sp.-36).

Key words: Bacteria, control, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Musa*; root-knot nematodes.

RESUMO

Ribeiro, R. C. F., V. P. Campos, A. A. Xavier, L. S. Rocha, H. B. Souza, F. M. Aguiar, R. M. Souza, E. H. Mizobutsi, C. R. Dias-Arieira. 2012. Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal do Panamá em bananeira. *Nematropica* 42:218-226.

Os objetivos do trabalho foram obter isolados de rizobactérias de bananeiras do Norte do Estado de Minas Gerais e avaliar o seu efeito sobre a mortalidade e motilidade, *in vitro*, de juvenis do segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne javanica*. Em casa de vegetação objetivou-se avaliar, em três ensaios, o efeito do tratamento de mudas micropropagadas de bananeira com 45 isolados bacterianos sobre: as variáveis nematológicas, o mal do Panamá e as variáveis vegetativas. De 86 isolados obtidos, seis proporcionaram mortalidade acima de 85% e três, acima de 80% de imobilidade de J₂. Em casa de vegetação dez isolados se destacaram por proporcionarem redução do número de juvenis de segundo estágio e/ou do número de galhas por raiz e/ou severidade do mal do Panamá e/ou por favorecerem incremento de matéria seca. Os isolados foram identificados como: RZ-17 (*Paenibacillus lentimorbus*-17), RZ-24 (*P. lentimorbus*-24), RZ-1 (*Bacillus pumilus*-1), RZ-3 (*B. pumilus*-3), RZ-10 (*B. pumilus*-10), RZ-60 (*B. pumilus*-60), RZ-69 (*B. pumilus*-69), RZ-76 (*Bacillus pumilus*-76), RZ-34 (*B. subtilis*-34), and RZ-36 (*Bacillus* sp.-36).

Palabras clave: Bactérias, controle, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Musa* sp., nematoide das galhas..

INTRODUÇÃO

A produção de bananas em algumas regiões no Brasil e no mundo é limitada por vários patógenos que podem ser veiculados por mudas. Destes, destacam-se os fitonematóides e fungos, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (foc), causador do mal do Panamá.

Várias espécies de *Meloidogyne* são relatadas associadas às raízes de bananeiras em diferentes partes do mundo. No Brasil, as espécies mais frequentes são *M. incognita* e *M. javanica* (Cofcewicz *et al.*, 2004). Em Minas Gerais e Bahia, em levantamento realizado entre os anos de 2003 a 2008, Neves *et al.* (2009) verificaram aumento na densidade populacional de

Meloidogyne spp. As perdas em *Musa* spp., causadas por *Meloidogyne* spp., podem chegar a 8% (Costa, 2000), somando-se ainda as interações com outros patógenos principalmente, fungos. A associação dos nematoides *Radopholus similis* e *M. incognita* em raízes de bananeira tem sido relacionada à quebra de resistência, redução de tolerância e aumento da severidade do mal do Panamá em cultivares de banana (Tenente, 2003).

O mal do Panamá, causado por *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ocorre de forma endêmica no Brasil. Esta doença assume grande importância em regiões onde se cultivam variedades suscetíveis à raça 1, a exemplo da Maçã e variedades do subgrupo Prata. O fungo pode permanecer por mais de trinta anos, o que torna difícil sua erradicação do local (Ploetz *et al.*, 2003).

Dentro do manejo de nematoides e do mal do Panamá, preconiza-se a utilização de mudas micropropagadas em razão da maior uniformidade genética e ausência de patógenos transmitidos via mudas tradicionais (Matsumoto e Silva Neto, 2003). No entanto, as mudas micropropagadas podem ser mais suscetíveis a patógenos como *foc* e nematoides (Blomme *et al.*, 2004). Segundo Smith *et al.* (2003), o aumento na suscetibilidade das plantas é resultado de um ambiente esterilizado no qual essas mudas são produzidas. Assim, as mudas podem ser rapidamente infectadas após o transplante, devido à ausência de uma microbiota ativa envolvida na defesa contra fitopatógenos. Deste modo, o tratamento de mudas micropropagadas com algum agente de controle biológico pode ser uma técnica adequada para restabelecer esta microbiota na rizosfera e garantir o sucesso no plantio. Dentre os agentes de controle biológico, destacam-se as rizobactérias que têm sido aplicadas a sementes e mudas e que têm demonstrado grande potencial no controle de fungos e fitonematoides, além de proporcionarem aumento de crescimento de plantas (Sotterro *et al.*, 2006; Araújo e Marchesi, 2009; Harthmann *et al.*, 2009; Abo-Elyour *et al.*, 2010).

Um dos primeiros passos para a utilização de qualquer organismo de controle biológico é a obtenção de um grande número de isolados, seguidos pela seleção *in vitro* e em casa de vegetação. O trabalho objetivou obter diferentes isolados rizobacterianos em vários bananais de municípios do Norte do Estado de Minas Gerais, Brasil, avaliar o efeito de tais isolados sobre a mortalidade e motilidade de *M. javanica* *in vitro* e avaliar em casa de vegetação a influência das bactérias selecionadas no teste *in vitro* sobre a população do nematóide e sobre a severidade do mal do Panamá em bananeira Prata Anã.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o isolamento de rizobactérias, amostras de raízes de bananeiras ‘Prata-Anã’ sadias, presentes em áreas contendo bananeiras infectadas por *foc*,

foram coletadas nos municípios de Jaíba, Janaúba, Matias Cardoso e Nova Porteirinha, localizados no Norte de Minas Gerais. As amostras coletadas no campo foram umedecidas, acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES. As raízes foram lavadas sob água corrente para remoção do solo aderido. Amostras de raízes (1 g) foram colocadas em tubos contendo 9 ml de solução salina (0,85%) autoclavada e colocadas por 5 minutos em banho de ultrassom. Aliquotas de 0,1 ml de uma série de diluições foram semeadas, em duplicata, na superfície do meio “Trypic Soy Agar” (TSA) e incubadas por 48 horas a 25°C em câmara de crescimento. As colônias bacterianas, com diferentes características morfológicas, foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio TSA e armazenadas a -80°C (Lucon e Melo, 1999; Mariano *et al.*, 2000). Para os ensaios, os isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio TSA e incubadas a 28°C por 48 horas. Em seguida, adicionaram-se às placas 10 ml de solução salina (NaCl 0,85%) e as colônias foram raspadas com auxílio de alça de Drigalski. A suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze e, em seguida foi calibrada em espectrofotômetro para concentração ajustada para OD₅₄₀=0,5 (aproximadamente 10 ufc. ml⁻¹). O inóculo de *M. javanica* foi mantido em casa de vegetação em tomateiros cultivar Kada em vasos contendo substrato composto por solo:areia:esterco (2:1:1, v:v:v) previamente autoclavado a 120°C/60 minutos durante três dias consecutivos. Foi utilizado o isolado 124 de *foc*, mais agressivo à bananeira Maçã, conforme ensaios preliminares (Pereira, 2007), mantido na micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UNIMONTES. O fungo foi multiplicado em meio Batata Dextrose Agar (BDA), a 25°C e escuro contínuo por sete dias.

Efeito de rizobactérias sobre a motilidade e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne javanica*

A partir de raízes de tomateiros com sintomas de galhas, procedeu-se a extração de ovos pela técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981). Os ovos obtidos foram colocados em câmaras de eclosão preparadas em placas de Petri contendo tela e papel de espessura fina, e foram mantidas a 28°C. Os juvenis de segundo estágio (J₂) eclodidos no terceiro dia foram recolhidos e colocados em água, de tal forma que a suspensão final tivesse 1000 J₂/ml. Em células de 300 µl de placas Elisa foram colocados 20 µl de tal suspensão, 100 µl da suspensão do isolado bacteriano a ser testada na concentração ajustada para OD₅₄₀=0,5. Após 24 horas, a avaliação de motilidade foi realizada pela contagem dos nematoides móveis e imóveis. A seguir, avaliou-se a mortalidade, conforme metodologia descrita por Chen e Dickson (2000) que,

fundamentalmente, consiste em adicionar uma a duas gotas de NaOH 1N à suspensão de nematoides. A contagem foi feita logo a seguir, considerando-se mortos os nematoides retos e imóveis, e, vivos, os espécimes retorcidos. Empregou-se o delineamento inteiramente ao acaso. Foram avaliados 86 isolados de rizobactérias com seis repetições e, como testemunhas foram utilizadas água destilada, solução salina e aldicarbe 150 GR a 500 ppm. Os dados foram convertidos em porcentagem e submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento de Scott e Knott a 5%.

Efeito de rizobactérias no controle de Meloidogyne javanica e do mal do Panamá em bananeiras cultivadas em casa-de-vegetação

A avaliação das rizobactérias em casa-de-vegetação foi realizada em três experimentos. Em cada um deles avaliaram-se 15 isolados que proporcionaram maior mortalidade de *M. javanica* no item anterior e inibição do desenvolvimento de *foc* em ensaios preliminares (Silva *et al.*, 2011).

Mudas micropropagadas de bananeira 'Prata-Anã', produzidas no Laboratório de Biotecnologia da UNIMONTES, completamente enraizadas com três folhas lançadas e no mínimo cinco centímetros de altura tiveram seus sistemas radiculares imersos em suspensão bacteriana na concentração ajustada para $OD_{540}=0,5$. Em seguida, foram transferidas para tubetes contendo vermiculita onde permaneceram por 30 dias. Após a fase de aclimatização e antes do transplante, as raízes das mudas localizadas externamente e na região da base do rizoma sofreram microferimentos com estilete. A seguir foram transplantadas para vasos de 1,5 L contendo substrato composto de solo:esterco:areia (2:1:1) previamente autoclavado a 120°C/60 min durante três dias consecutivos. Adicionaram-se, na região do colo da planta, 5 ml de uma suspensão de esporos de *foc* contendo 10^5 conídios.ml⁻¹. Após 24 horas, cada muda foi inoculada com 5 ml de suspensão aquosa contendo 3000 J₂ de *M. javanica* aplicada em três orifícios no solo ao redor da planta. Os tratamentos constaram de plantas inoculadas apenas com os isolados bacterianos, isolados bacterianos x *foc*, isolados bacterianos x *M. javanica*, isolados bacterianos x *foc* x *M. javanica*, apenas *M. javanica* e apenas *foc*. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação em blocos ao acaso no esquema fatorial 15 x 2 x 2 (isolados de rizobactérias x presença ou ausência de *foc* x presença ou ausência de *M. javanica*). Foram empregadas seis repetições. A parcela experimental contou de um vaso com uma planta de bananeira.

Após 60 dias, avaliaram-se a massa seca da parte aérea, o número de galhas, o número de massas de ovos e o número de ovos por raiz, além do número de J₂/200cm³ do solo extraídos de acordo com a técnica de Jenkins (1964). Para a avaliação do efeito das rizobactérias na bioproteção de *foc*, realizou-se corte

transversal do pseudocaulo da planta a 5 cm do nível do solo para se estimar a severidade dos sintomas de acordo com a escala de notas do International Network for the Improvement of Banana and Plantain - INIBAP (Charlier *et al.*, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras de raízes de bananeiras Prata-Anã, coletadas nos diferentes municípios, foram obtidos 86 isolados de rizobactérias, sendo 12 de Jaíba, 20 de Matias Cardoso, 25 de Janaúba e 29 de Nova Porteira.

Efeito de rizobactérias sobre a motilidade e mortalidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de Meloidogyne javanica

Dos 86 isolados de rizobactérias avaliados todos proporcionaram mortalidade de J₂ de *M. javanica* superior às testemunhas água e solução salina (Tabela 1). Vinte e três isolados rizobacterianos causaram mortalidade de J₂ de *M. javanica* acima de 70% e destes, seis isolados causaram mortalidade acima de 81%. Oitenta e cinco isolados rizobacterianos causaram mortalidade de J₂ de *M. javanica* significativamente superior ao aldicarbe o que demonstra grande potencial no controle desse nematóide. Com relação ao efeito sobre a motilidade de J₂ de *M. javanica*, com exceção do isolado RZ-17, RZ-1 e RZ-10, todos os demais isolados proporcionaram imobilidade dos nematoides significativamente superior à testemunha (água destilada) (Tabela 1). Dos tratamentos que não afetaram a motilidade do nematóide em relação à testemunha (água), o isolado bacteriano RZ-17 proporcionou no entanto 96,18% de mortalidade de juvenis apresentando efeito nematocida e não nematostático. É importante ressaltar que 18 isolados avaliados afetaram a motilidade dos J₂ estatisticamente semelhante à proporcionada pelo nematocida aldicarbe que é considerado um produto nematostático.

Os resultados obtidos no presente trabalho são coerentes com aqueles obtidos por outros pesquisadores. Siddiqui *et al.* (2001) e Siddiqui e Shaukat (2004) verificaram, por meio de testes *in vitro*, efeito nematocida de diferentes isolados de *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* sobre juvenis de *M. javanica* em relação à testemunha. Também, Son *et al.* (2007) verificaram efeito nematocida de diferentes isolados de *Paenibacillus* spp. sobre *M. incognita*. Abo-Elyour *et al.* (2010) verificaram, *in vitro*, que *Pseudomonas fluorescens* e *P. aeruginosa* reduziram a motilidade de J₂ de *M. incognita* em 48% e 50%, respectivamente, em relação à testemunha. De acordo com Siddiqui e Shaukat (2003), *P. fluorescens* produz metabólitos, incluindo 2,4-diacetilfloroglucinol e cianeto de hidrogênio, que inibem a eclosão e induzem a mortalidade de juvenis de *M. javanica*.

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade e imobilidade de juvenis de segundo estágio (J₂) de *Meloidogyne javanica* submetidos a diferentes isolados de rizobactérias (RZ), *in vitro*.

Tratamentos	Mortalidade de J ₂ (%)	Tratamentos	Imobilidade de J ₂ (%)
Água destilada	0,40 a ^w	Água destilada	1,79 a
Solução salina	0,56 a	RZ-17, RZ-1, RZ-10	3,80-11,08 a
RZ-82	12,25 b	RZ (11, 3, 4, 22, 15, 24, 6, 47, 14, 41, 5, 46, 12, 60, 2, 63, 72, 13, 28, 65, 42, 7, 21)	16,60-31,16 b
Aldicarbe 500 ppm	14,17 b	Solução salina	18,17 b
RZ (71, 64, 78, 40, 66, 68, 84, 86, 51, 37, 57, 9, 36, 85, 74)	16,75-28,06 c	RZ (23, 8, 29, 45, 33, 31, 26, 20, 32, 58, 67, 18, 25, 49, 43, 48, 54, 44, 50, 30, 75, 27)	32,49-47,82 c
RZ (73, 69, 52, 52, 56, 76, 80, 61, 81, 55, 83, 39, 38, 79, 70, 19, 53, 62, 35, 59, 34)	32,43-47,41 d	RZ (16, 34, 59, 35, 62, 53, 19, 70, 79, 38, 39, 83, 55, 61, 81, 80, 76, 56, 52, 69)	49,83-67,48 d
RZ (16, 27, 75, 30, 50, 44, 54, 48, 43, 49, 25, 18, 67, 58, 32, 20, 26, 31, 33, 45, 33, 45, 29, 8, -23)	50,16-67,50 e	RZ (73, 74, 85, 36, 9, 57, 37, 51, 66, 86, 84, 68, 78, 40, 77, 64, 71, 82)	69,77-87,16 e
RZ (21, 7, 42, 13, 28, 65, 72, 63, 2, 60, 12, 46, 5, 41, 14, 47, 6, 24)	68,83-77,31 f	Aldicarbe 500 ppm	85,00 e
RZ (15, 22, 4, 3, 11, 10, 1, 17)	79,38-96,18 g	-	-

^w Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5%.

Tabela 2. Número de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* por 200 cm³ de solo em função do tratamento de mudas micropropagadas de bananeira Prata-Anã com diferentes isolados de rizobactérias e inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*foc*) (Experimento 1).

Tratamentos	Número de juvenis de <i>M. javanica</i>	
	Sem <i>foc</i>	Com <i>foc</i>
RZ-36	72,8 aA ^w	61,2 aA
RZ-60	77,2 aA	73,2 aA
RZ-1	87,0 aA	20,3 aA
RZ-24	102,7 aA	48,3 aA
RZ-28	103,7 aA	60,7 aA
RZ-12	107,3 aA	64,3 aA
RZ-58	114,8 aA	57,5 aA
RZ-41	120,0 aB	34,0 aA
RZ-47	128,7 aA	74,3 aA
RZ-34	130,2 aB	26,7 aA
RZ-42	135,7 aB	36,3 aA
RZ-10	136,0 aA	89,2 aA
RZ-17	146,2 aB	50,3 aA
RZ-11	153,0 aB	41,0 aA
RZ-3	206,3 bB	68,8 aA
Sem rizobactéria	318,2 cB	79,2 aA

^w Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelos testes de Scott-Knott e F, respectivamente ao nível de 5% de probabilidade. Para análise estatística,

os dados foram transformados em \sqrt{x} .

Efeito de rizobactérias no controle de Meloidogyne javanica e do mal-do-Panamá em bananeiras cultivadas em casa de vegetação

Com relação ao número de J_2 de *M. javanica*, houve interação significativa entre a aplicação de isolados de rizobactérias em plantas inoculadas ou não com *foc* ($P < 0,01$) no experimento 1 (Tabela 2) e significância apenas do fator *foc* ($P < 0,05$) nos experimentos 2 e 3 (Tabela 3).

No experimento 1, na ausência de *foc*, todos os isolados avaliados reduziram de 35,17 a 77,12% o número de J_2 de *M. javanica* de em relação ao controle (sem rizobactérias). (Tabela 2). No entanto, na presença de *foc* não houve efeito significativo dos isolados sobre os J_2 em relação à testemunha. Fixando-se o fator 'isolados de rizobactérias', verificou-se que os isolados RZ-41, RZ-34, RZ-42, RZ-17, RZ-11 e RZ-3 reduziram significativamente o número de J_2 nas plantas inoculadas com *foc* em relação àquelas não inoculadas com o fungo (Tabela 2).

Nos experimentos 2 e 3 houve efeito significativo apenas do fator *foc*. Na presença do fungo houve redução significativa do número de J_2 de *M. javanica* no solo no solo (Tabela 3).

No experimento 1, na ausência de *foc*, oito isolados de rizobactérias reduziram significativamente o número de galhas em relação à testemunha (sem rizobactérias) (Tabela 4). Os isolados RZ-3 e RZ-10 proporcionaram redução de 61%, em relação à testemunha. Na presença de *foc* não houve efeito significativo dos isolados sobre o número de galhas em relação à testemunha. Observou-se ainda que os isolados RZ-1, RZ-12, RZ-34, RZ-42, RZ-60 e RZ-47 reduziram significativamente o número de galhas nas plantas inoculadas com *foc* em relação àquelas não inoculadas com o fungo. No experimento 2, na ausência de *foc*, 11 isolados avaliados reduziram significativamente o número de galhas em relação à testemunha. Os isolados RZ-69 e RZ-76 proporcionaram redução de 48,45 e 48,06%, respectivamente em relação à testemunha. No entanto, na presença de *foc*, não houve efeito significativo dos isolados sobre o número de galhas em relação à testemunha. Fixando-se o fator 'isolados de rizobactérias', verificou-se que nas raízes tratadas com os isolados RZ-2, RZ-65, RZ-82 e RZ-32 e no controle (sem rizobactérias) ocorreu número significativamente inferior de galhas nas plantas inoculadas com *foc* em relação àquelas não inoculadas com o fungo (Tabela 4).

No experimento 3, não houve efeito significativo dos fatores: isolados bacterianos e *foc* e nem interação significativa entre tais fatores no número de galhas (dados não apresentados). No entanto, em todos os experimentos, houve efeito apenas do fator *foc* ($P \leq 0,05$) sobre o número de massas de ovos. Na presença do fungo, o número de massas de ovos foi significativamente menor do que na ausência de *foc* (Tabela 5). Com relação ao número de ovos, não houve efeito significativo dos fatores: isolados bacterianos

e *foc* e nem interação significativa entre eles nos experimentos 1, 2 e 3 (dados não apresentados).

Redução do número de galhas e de juvenis por rizobactérias tem sido observada por vários autores (Son *et al.*, 2007; Araújo e Marchesi, 2009; Abo-Elyour *et al.*, 2010). O controle de fitonematoides pode ocorrer em função da produção de antibióticos, toxinas, inibição do processo de reconhecimento entre planta e patógeno e indução de resistência sistêmica (Siddiqui e Shakout, 2004). A redução no número de J_2 de galhas e de massas de ovos observada nas mudas previamente infectadas com *foc* na presença de alguns isolados de rizobactérias e na ausência de rizobactérias ou independente da presença de tais bactérias (Tabelas 2 a 5) pode ter ocorrido devido à competição entre *M. javanica* e *foc* no sítio de infecção ou no sítio de alimentação, visto que os dois são parasitas vasculares. Ambos os organismos penetram nas raízes novas, na região da coifa e na zona de alongamento (Brandes, 1919; Campos *et al.*, 2011). Além disto, o fungo teve prioridade no processo de infecção visto que foi inoculado nas plantas antes do nematoide. Após a penetração, *F. oxysporum*, frequentemente, secreta toxinas ou compostos semelhantes a hormônios que alteram a fisiologia da planta para o benefício do fungo (Knogge, 1996). Tal alteração pode ter afetado a formação de células gigantes ou a manutenção de tais células reduzindo a população do nematoide. De forma semelhante, Griffin e Thyr (1988) observaram reduzida reprodução de *M. hapla* em mudas de alfafa previamente infectadas com *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*.

Independentemente da presença de *M. javanica*, o tratamento de mudas com alguns isolados de rizobactérias influenciou a severidade do mal do Panamá. Nos experimentos 1 e 2, 13 isolados reduziram significativamente a doença comparados aos demais isolados e ao controle. No experimento 3, sete isolados aumentaram a severidade da doença em relação à testemunha (Tabela 6). Em bananeira, a aplicação de rizobactérias tem apresentado resultados promissores no aumento da supressividade do solo ao mal do Panamá. Saravanan *et al.* (2003) observaram aumento na supressão dessa doença após a aplicação de *P. fluorescens* associada à aplicação de extrato de neem (*Azadirachta indica*) por um período de sete meses.

A massa seca de parte aérea no experimento 1, na presença de *foc* e ausência de *M. javanica*, foi incrementada significativamente pelos isolados RZ-34 e RZ-24 em relação aos demais isolados e à testemunha (Tabela 7). O isolado RZ-24 aumentou em 100% a massa da matéria seca em relação à testemunha. No experimento 3, o tratamento das mudas com seis isolados de rizobactérias reduziu significativamente a massa de plantas infectadas pelo nematoide e pelo fungo, enquanto nove isolados não diferiram significativamente da testemunha (Tabela 7).

No ensaio 2, a matéria seca da parte aérea das mudas não foi afetada pelo tratamento das mudas com os isolados de rizobactérias (dados não apresentados).

Tabela 3. Número de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* por 200cm³ de solo em função da inoculação ou não de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*foc*) em mudas de bananeira Prata-Anã tratadas com isolados de rizobactérias.

Tratamentos	Número de juvenis de <i>M. javanica</i>	
	Experimento 2	Experimento 3
Com <i>foc</i>	73,5 a ^w	73,5 a ^w
Sem <i>foc</i>	105,5 b	105,5 b

^w Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste F a 5%. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$

Tabela 4. Número de galhas de *Meloidogyne javanica* por raiz em função do tratamento de mudas micropropagadas de bananeira Prata-Anã com diferentes isolados de rizobactérias e inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*foc*) (Experimento 1).

Tratamentos	Galhas (Experimento 1)		Tratamentos	Galhas (Experimento 2)	
	Sem <i>foc</i>	Com <i>foc</i>		Sem <i>foc</i>	Com <i>foc</i>
RZ-3	56,16 aA ^w	73,16 aA	RZ-69	145,2 aA ^w	148,0 aA
RZ-10	56,33 aA	95,00 aA	RZ-76	146,3 aA	143,3 aA
RZ-17	87,50 aA	81,16 aA	RZ-73	161,2 aA	123,5 aA
RZ-11	92,50 aA	49,16 aA	RZ-43	166,7 aA	125,3 aA
RZ-24	94,66 aA	64,83 aA	RZ-23	174,2 aA	134,3 aA
RZ-36	102,00 aA	88,16 aA	RZ-15	174,5 aA	174,2 aA
RZ-1	106,83 aB	43,66 aA	RZ-85	181,2 aA	208,3 aA
RZ-28	110,16 aA	83,33 aA	RZ-18	187,7 aA	133,8 aA
RZ-12	114,00 bB	61,50 aA	RZ-4	193,8 aA	225,2 aA
RZ-34	119,16 bB	45,66 aA	RZ-22	198,2 aA	95,7 aA
RZ-42	123,16 bB	66,16 aA	RZ-5	214,8 aA	128,7 aA
RZ-41	125,00 bA	76,33 aA	RZ-2	246,3 bB	110,5 aA
RZ-60	139,50 bB	80,00 aA	Sem rizobactérias	281,7 bB	110,5 aA
Sem rizobactérias	144,66 bB	79,00 aA	RZ-65	296,7 bB	121,8 aA
RZ-47	151,50 bB	43,33 aA	RZ-82	303,0 bB	163,7 aA
RZ-58	173,00 bB	63,83 aA	RZ-32	310,2 bB	127,5 aA

^w Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% e F, respectivamente a 5% de probabilidade. Para análise estatística, os dados foram transformados em \sqrt{x} .

Tabela 5. Número de massas de ovos de *Meloidogyne javanica* por raiz em função da inoculação ou não de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (*foc*) em mudas de bananeiras Prata-Anã tratadas com rizobactérias.

Tratamentos	Número de massas de ovos de <i>Meloidogyne javanica</i>		
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3
Com <i>foc</i>	34,60 a ^w	20,8 a	20,8 a
Sem <i>foc</i>	44,59 b	29,2 b	29,2 b

^w Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste F a 5%. Para análise estatística, os dados foram transformados em \sqrt{x} .

Tabela 6. Média de notas de severidade do mal do Panamá em mudas de bananeiras Prata-Anã tratadas com isolados de rizobactérias.

Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3	
Isolados de rizobactérias	Nota	Isolados de rizobactérias	Nota	Isolados de rizobactérias	Nota
RZ-10	1,00 a ^w	RZ-23	1,00 a w	RZ-86	1,00 a ^w
RZ-11	1,00 a	RZ-32	1,00 a	RZ-40	1,00 a
RZ-28	1,00 a	RZ-65	1,00 a	RZ-71	1,00 a
RZ-1	1,00 a	RZ-4	1,00 a	Sem rizobactérias	1,08 a
RZ-41	1,00 a	RZ-18	1,08 a	RZ-57	1,16 a
RZ-34	1,07 a	RZ-69	1,08 a	RZ-69	1,25 a
RZ-42	1,08 a	RZ-85	1,17 a	RZ-14	1,25 a
RZ-36	1,08 a	RZ-2	1,17 a	RZ-46	1,25 a
RZ-3	1,08 a	RZ-43	1,23 a	RZ-6	1,33 a
RZ-24	1,08 a	RZ-73	1,25 a	RZ-84	1,41 b
RZ-47	1,16 a	RZ-76	1,25 a	RZ-68	1,46 b
RZ-58	1,16 a	RZ-5	1,25 a	RZ-64	1,50 b
RZ-12	1,16 a	RZ-22	1,33 a	RZ-63	1,50 b
RZ-17	1,33 b	Sem rizobactérias	1,41 b	RZ-77	1,66 b
Sem rizobactérias	1,33 b	RZ-82	1,50 b	RZ-78	1,75 b
RZ-60	1,41 b	RZ-15	1,67 b	RZ-66	2,00 b

^w Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5%.

Tabela 7. Massa seca de parte aérea (g) de mudas de bananeira Prata-Anã, tratadas com isolados de rizobactérias e inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (foc) e foc + *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Massa seca (Experimento 1)	Tratamentos	Massa seca (Experimento 3)
	foc		foc + <i>M. javanica</i>
RZ-3	1,7 a ^w	RZ-84	2,50 a ^w
RZ-47	1,8 a	RZ-68	2,54 a
RZ-41	2,0 a	RZ-46	2,54 a
RZ-58	2,2 a	RZ-69	2,66 a
RZ-28	2,2 a	RZ-14	2,79 a
RZ-12	2,2 a	RZ-63	2,83 a
RZ-11	2,2 a	RZ-77	2,91 b
RZ-1	2,3 a	RZ-71	3,00 b
Sem rizobactérias	2,5 a	RZ-6	3,04 b
RZ-10	2,5 a	RZ-40	3,04 b
RZ-36	2,7 a	RZ-57	3,04 b
RZ-42	2,7 a	Sem rizobactérias	3,08 b
RZ-60	2,8 a	RZ-86	3,08 b
RZ-17	3,2 a	RZ-78	3,20 b
RZ-34	3,7 b	RZ-66	3,25 b
RZ-24	5,0 b	RZ-64	3,37 b

^w Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Tabela 8. Massa seca da parte aérea (g) de mudas de bananeiras Prata-Anã, tratadas com rizobactérias e inoculadas com *Meloidogyne javanica* ou com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*) (Experimento 2)

Tratamentos	Massa seca (g) (Experimento 1)	Tratamentos	Massa seca (g) (Experimento 2)
Com Nematóide	2,1 a ^w	Com foc	2,1 aw
Sem Nematóide	2,3 b	Sem foc	2,3 b

^w Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste F a 5%.

No entanto, a massa foi significativamente superior nas plantas que não foram inoculadas com nematoides e naquelas que não foram inoculadas com *foc* (Tabela 8) em relação às plantas inoculadas com tais patógenos. Vários autores têm verificado promoção de crescimento de plantas de alface, sorgo, eucalipto, cebola e kiwi por diferentes rizobactérias (Soterro *et al.*, 2006; Idris *et al.*, 2009; Mafia *et al.*, 2009; Harthmann *et al.*, 2009; Erturk *et al.*, 2010). A promoção de crescimento tem sido creditada por estes autores à capacidade das rizobactérias produzirem fito-hormônios como auxina, giberelinas e citocininas. Em outros trabalhos, os autores têm observado redução do desenvolvimento de plantas (Soterro *et al.*, 2006; Brunetta *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2009) e em alguns, ausência de efeito sobre o desenvolvimento de plantas (Brunetta *et al.*, 2010).

Os isolados que tiveram efeito supressor sobre variáveis relativas aos patógenos e aumentaram a biomassa de plantas foram identificados pelo teste de perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa (Sanhueza e Melo, 2007) no laboratório de Microbiologia Ambiental do Centro Nacional de Pesquisa do Meio Ambiente da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Os isolados e suas respectivas identificações são: RZ-17 (*Paenibacillus lentimorbus*-17), RZ-24 (*P. lentimorbus*-24), RZ-1 (*Bacillus pumilus*-1), RZ-3 (*B. pumilus*-3), RZ-10 (*B. pumilus*-10), RZ-60 (*B. pumilus*-60), RZ-69 (*B. pumilus*-69), RZ-76 (*Bacillus pumilus*-76), RZ-34 (*B. subtilis*-34), and RZ-36 (*Bacillus* sp.-36).

Os isolados identificados demonstraram potencial para o tratamento de mudas de bananeira visando o controle de *M. javanica* e do mal do Panamá, além de promoverem maior desenvolvimento das plantas comprovado pelo aumento do peso de matéria seca de parte aérea. Estes isolados serão avaliados em ensaios futuros no campo.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo financiamento do projeto e pela concessão da Bolsa de Incentivo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico - BIPDT.

LITERATURA CITADA

- Abo-Elyour, K. A., Z. Khan, M. El-Morsi Award, and M. F. Abedel-Moneim. 2010. Evaluation of plant extracts and *Pseudomonas* spp. for control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematropica* 40:289-299.
- Araújo, F. F., and G. V. P. Marchesi. 2009. Uso de *Bacillus subtilis* no controle de meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. *Ciência Rural* 39:1558-1561.
- Blomme, G., H. Beule, R. L. Swennem, A. Tenkouano, and D. Waele. 2004. Effect of nematodes on root and shoot growth of *in vitro*-propagated and sword sucker-derived plants of six *Musa* spp. genotypes. *Nematology* 6:593-604.
- Boneti, J. I. S., and S. Ferraz. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6:553.
- Brandes, E. W. 1919. Banana wilt. *Phytopathology* 9:339-389.
- Brunetta, J. M. F. C., A. C. Alfenas, R. G. Mafia, J. M. Gomes, D. B. Binoti, and E. P. Fonseca. 2007. Avaliação da especificidade de rizobactérias isoladas de diferentes espécies de *Pinus* sp.. *Revista Árvore* 31:1027-1033.
- Brunetta, J. M. F. C., A. C. Alfenas, R. G. Mafia, J. M. Gomes, D. B. Binoti, and N. A. N. Fonseca. 2010. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras do crescimento de *Pinus taeda*. *Revista Árvore* 34:399-406.
- Carvalho, D. D. C., D. F. Oliveira, M. Pasqual, and V. P. Campos. 2009. Rizobactérias produtoras de promotores do crescimento de plantas. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 39:338-341, 2009.
- Campos, H. D., Campos, V. P., J. R. C. Silva, L. H. C. P. Silva, S. A. S. Costa, and W. C. Terra. 2011. Atração e penetração de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em raízes excisadas de soja. *Ciencia Rural* 41:1496-1502.
- Charlier, J., D. Waele, and J. Escalant. 2003. Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to Fusarium wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes. *INIBAP Technical Guidelines* 7:27-62.

- Chen, S.Y., and D.W. Dickson. 2000. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 32:117-121.
- Cofcewicz, E. T.; R. M. D. G. Carneiro, P. Castagnone-Sereno, and P. Quénehervé. 2004. Enzyme phenotype and genetic diversity of root-knot nematodes parasiting *Musa* in Brazil. *Nematology* 6:85-95.
- Costa, D.C., 2000. Nematoses em banana e abacaxi no Brasil: Danos e manejo (palestra). XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA. Uberlândia-Minas Gerais, p. 50-8.
- Erturk, Y., S. Ercisli, A. Haznedar, and R. Cakmakci. 2010. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological Research* 43:91-98.
- Griffin, G. D., and B. D. Thyr. 1988. Interaction of *Meloidogyne hapla* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* on alfafa. *Phytopathology* 78:421-425.
- Harthmann, O. E. L., A. F. Mógor, J. A. Wordell Filho, W. C. Luz, and L. A. Biasi. 2009. Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. *Ciência Rural* 39:2533-2538.
- Idris, A., N. Labuschagne, and L. Korsten. 2009. Efficacy of rhizobacteria for growth promotion in sorghum under greenhouse conditions and selected modes of action studies. *Journal of Agricultural Science* 147:17-30.
- Knogee, W. 1996. Fungal infection of plants. *The Plant Cell* 8:1711-1722.
- Lucon, C. M. M., and I. S. Melo. 1999. Seleção de rizobactérias antagonicas a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, em tubérculos de batata. *Summa Phytopathologica* 25:132-136.
- Mafia, R. G., A. C. Alfenas, L. A. Maffia, E. M. Ferreira, D. H. B. Binoti, and L. Siqueira. 2009. Microbionização e interação entre rizobactérias promotoras do crescimento e clones de eucalipto. *Revista Árvore* 33:789-797.
- Mariano, R. L. R., S. J. Michereff, E. B. Silveira, S. M. P. Assis, and A. M. A. Gomes. 2000. Isolamento de bactérias para testes de antagonismo. Pp. 115-119 in R. L. R. Mariano, ed. *Manual de práticas em Fitobacteriologia*. Recife
- Matsumoto, K., S. P. da Silva Neto. 2003. Micropropagation of bananas. Pp. 353-380 in S. M. Jain, and K. Ishii, ed. *Micropropagation of woody trees and fruits*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Neves, W. S., M. S. C. Dias, and J. G. Barbosa. 2009. Flutuação populacional de nematóides em bananais de Minas Gerais e Bahia (Anos 2003 a 2008). *Nematologia Brasileira* 33:281-285.
- Pereira, E. K. C. 2007. Patogenicidade e caracterização de isolados de *Fusarium* spp. obtidos de bananeiras sadias e infectadas com Mal do Panamá. 26p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2007.
- Ploetz, R. C., J. E. Thomas, and W. R. Slobaugh. 2003. Disease of banana plantain. Pp. 73-134 in R. Ploetz, Ed. *Disease of tropical fruit crops*. Florida. CABI
- Sanhueza, R. M. V. B., I. S. Melo. 2007. Identificação de bactérias por análise dos ácidos graxos. Pp. 59-65 in Sanhueza, R. M. V. B., I. S. Melo. *Métodos utilizados no biocontrole de fitopatógenos*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho.
- Saravanan, T., M. Muthusamy, and T. Marimuthu. 2003. Development of integrated approach to manage the fusarium wilt banana. *Crop Protection* 22:1117-1123.
- Siddiqui, I. A., and S. Shaukat. 2003. Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO in tomato: importance of bacterial secondary metabolites 2,4-diacetylphloroglucinol. *Soil Biology and Biochemistry* 35:1616-1623.
- Siddiqui, I. A., and S. S. Shaukat. 2004. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production. *Journal of Phytopathology* 152:48-54.
- Siddiqui, S., S. Ehetshamul-Haque, and S. S. Shaukat. 2001. Use of rhizobacteria in the control of root rot-knot disease complex of mungbean. *Journal of Phytopathology* 149:3337.
- Silva, H. R., A. A. Xavier, R. C. F. Ribeiro, A. M. S. Cardoso, E. H. Mizobutsi, L.S. Rocha, I. P. Soares-Martins. 2011. Desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* sob adição sucessiva de filtrados de rizobactérias In: 44º CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2011, BENTO GONÇALVES-RS.
- Smith, L. D. O'Keef, M. Smith, and S. Hamil. 2003. The benefits of applying rhizobacteria to tissue-cultured bananas. *Banana Topics* 33:1-4.
- Son, S. H., Z. Khan, H. S. Noon, S. G. Kim, D. R. Choi, and Y. H. Kim. 2007. Nematicidal activity of a plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa*. *Russian Journal of Nematology* 15:95-100.
- Soterro, A. N., S. Freitas, A. M. T. Melo, and P. E. Trani. 2006. Rizobactérias e alface: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 30:225-234.
- Tenente, R. C. V. 2003. Interação entre nematóides e *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. In: Simpósio Brasileiro sobre Bananicultura, Fitossanidade e o Futuro da Bananicultura, 5, 2003, Paracatu-MG, **Anais...** Paracatu: Nova Civilização. Pp. 122-126.

Received:

30/XI/2011

Accepted for publication:

9/V/2012

Recibido:

Aceptado para publicación: