

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOLOGIA**

KALIANE SÍRIO ARAÚJO

**RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DO NEMATOIDE CAVERNÍCOLA
E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE BANANEIRA**

CRUZ DAS ALMAS – BA

JULHO – 2011

KALIANE SÍRIO ARAÚJO

**RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DO NEMATOIDE CAVERNÍCOLA
E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE BANANEIRA**

Monografia apresentada ao curso de graduação Bacharelado em Biologia, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Biologia.

Orientadora: Dr. Ana Cristina Fermino Soares

Co-orientadores: Dr. Harllen Sandro Alves Silva

Dr. Aldo Vilar Trindade

CRUZ DAS ALMAS – BA

JULHO – 2011

A658 Araújo, Kaliane Sírio.

Rizobactérias no controle do nematoide cavernícola e na promoção de crescimento de bananeira./ Kaliane Sírio Araújo._ Cruz das Almas - BA, 2011.

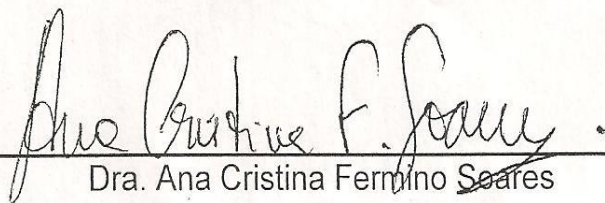
64 f.; il.

Orientador: Ana Cristina Fermino Soares

Co-orientador: Harllen Sandro Alves Silva; Aldo Vilar

Trindade

RIZOBACTÉRIAS NO CONTROLE DO NEMATOIDE CAVERNÍCOLA
E NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE BANANEIRA

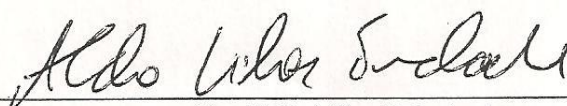


Dra. Ana Cristina Fermino Soares

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Orientadora)

Aprovado em: 14 de julho de 2011

BANCA EXAMINADORA



Dr. Aldo Vilar Trindade

Embrapa Mandioca e Fruticultura
(Co-orientador)



Dra. Carla da Silva Sousa

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Dra. Élide Barbosa Corrêa

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Aos meus pais Gisélia Sírío Araújo e Lauro Conceição Araújo (sempre presente) pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos destas, e de outras realizações. Aos meus irmãos, minhas avós, amigos e mestres pelo apoio e incentivo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Algumas pessoas, simplesmente, passam por nossas vidas e deixam suas marcas e referências. Agradeço a Deus, primeiramente, por colocar em meu caminho pessoas com tamanha generosidade, que se dispuseram a me ajudar a construir, realizar e almejar novos projetos de sonhos.

A minha companheira, amiga, referência e mãe, Gisélia, por toda dedicação, compreensão, incentivo, confiança, pelos ensinamentos e amor. Pessoa por quem tenho grande amor, respeito e admiração.

Ao meu pai, Lauro, que estará sempre comigo, por todo amor, pelos ensinamentos e dedicação.

Aos meus irmãos, Katiane e Kalisson, pelo apoio e incentivo.

Aos mestres do curso de biologia, pelos ensinamentos e pelas contribuições para minha formação profissional.

Ao Dr. Aldo Vilar Trindade, pela oportunidade de estágio, que muito contribuiu para o meu direcionamento profissional, pelas orientações, amizade, disponibilidade, e por ser uma grande referência de conduta profissional. Pessoa, a qual tenho grande respeito, admiração e carinho.

Ao Dr. Harllen Sandro Alves Silva, pelas orientações, amizade, pelo incentivo e por acreditar na minha capacidade de superar os desafios a mim conferidos. Um exemplo de competência e companheirismo. Pessoa por quem tenho admiração, respeito e imenso carinho.

A Dra. Ana Cristina Fermino Soares, pelo apoio e a Dra. Carla da Silva Sousa e Dr. Francisco Sousa Lima, pela amizade, carinho, incentivo, pelas valiosas sugestões e competência profissional.

Ao Dr. Carlos Alberto Ledo e Dr. Aristóteles P. Matos, pela ajuda, paciência e competência profissional.

A equipe do laboratório de microbiologia do solo e de nematologia, os quais contribuíram de forma direta na realização deste trabalho. Em especial, Celma Cardoso Peixoto, Sr. João Vieira e Jorge Luiz, pelas orientações, sugestões, pela parceria no cumprimento das atividades, e a todos pelo apoio, incentivo, amizade e competência.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura, pelas instalações e na figura das pessoas em que me apoiaram e as quais sempre me despertaram admiração e carinho, como os colegas do laboratório de fitopatologia, do laboratório de solos, de entomologia e biologia molecular, ao pessoal do campo e aos zeladores, em especial Dinho, Beto e Sr. Zé, pela agradável convivência e ajuda.

A CAMPO (Companhia de Promoção Agrícola), pela disponibilidade e parceria.

Aos colegas do laboratório de microbiologia da UFRB, pela disponibilidade e carinho.

Aos meus grandes amigos do curso de biologia, por todos os ótimos momentos que tivemos nesses anos de convívio, pelo apoio e carinho.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigada a todos...!

RESUMO

Existem diversas formas de controle do *Radopholus similis* em bananeira, como o uso de nematicidas, rotação de culturas e a utilização de variedades resistentes. Devido a obstáculos econômicos e ambientais, medidas alternativas vêm sendo estudadas, como o emprego de rizobactérias no controle biológico. O objetivo deste estudo foi isolar e avaliar rizobactérias de plantas nematicidas no controle do nematoide *Radopholus similis* e na promoção de crescimento de mudas de bananeira micropropagadas. A partir de solo rizosférico de plantas, *Crotalaria juncea* e *Tagetes patula* L., foram obtidos setenta e sete isolados de bactérias rizosféricas, cujos metabólitos foram avaliados quanto à presença de toxidade sobre o nematoide, em condições *in vitro*, após 24 e 36 horas de exposição. Do total de rizobactérias obtidas, 33 % apresentaram efeito nematicida ao *R. similis*, durante as avaliações dos ensaios *in vitro*, com uma variação de 56,66 % a 100 % no índice de mortalidade destes, no decorrer dos períodos avaliados. Cinco isolados (3 TSA-CD, 4 TSA-CD, 6 TSA-CD, 7 TSA-CD e 17 KB-CR) foram identificados como mais promissores, por apresentar efeito nematicida em ambos os períodos, e selecionados para testes *in vivo*. Diferentemente das avaliações em laboratório, as rizobactérias nos testes realizados em mudas de bananeira micropropagadas não apresentaram resultados significativos para o biocontrole. Pode-se observar uma alta infestação de fêmeas e juvenis, formas infectivas da doença, nas raízes, comparado com os níveis encontrados no solo. Em relação ao índice de promoção de crescimento das mudas, pode-se verificar resultados significativos nos tratamentos com rizobactérias na ausência do fitonematoide *R. similis*.

Palavras-chave: Controle biológico, *Radopholus similis*, banana

ABSTRACT

There are several ways to control *Radopholus similis* in banana trees, by using nematicides, culture rotations and resistant varieties. Due to economical and environmental obstacles, alternative measures have been studied, such as the usage of rhizobacteria in the biological control. The aim of this study is was to isolate and evaluate rhizobacteria from nematicide plants to control the nematode *Radopholus similis* and to promote the growth of micropropagated banana plantlets. Seventy-seven bacterial isolates were obtained from rhizospheric soil of *Crotalaria juncea* e *Tagetes patula* L., and their metabolites were evaluated, under in vitro conditions, for toxic effect on those nematodes after 24 and 36 hours treatment. Thirty three percent of the rhizobacteria showed nematocidal effect to *R. similis*, with 56,6% to 100% variation on mortality due to the exposure to rhizobacteria metabolites during the period of time evaluated. Five rhizobacteria isolates (3 TSA-CD, 4 TSA-CD, 6 TSA-CD, 7 TSA-CD e 17 KB-CR) were considered the most promising biocontrol agents due to their nematocidal effect in both period of time. And they were selected for in vivo studies. However, despite their in vitro effect, the in vivo biocontrol trails did not show good results. It was observed high infestation of juvenile females of the nematodes in roots of tissue cultured banana plantlets, in comparison with the nematode found in the soil. Regarding to the plantlet growth promoting index, it was observed a significant response in the treatments with rhizobacteria in absence of *R. similis*.

Keywords: Biological control, *Radopholus similis*, banana

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Necroses na raiz e rizoma causadas por <i>Radopholus similis</i> .	21
Figura 2. Tombamento da bananeira devido ao ataque de <i>Radopholus similis</i> .	22
Figura 3. Mudas micropropagadas da cultivar 'Grande Naine' utilizadas para multiplicação de <i>Radopholus similis</i> .	35
Figura 4. Metabólitos bacterianos conservados a – 4 °C.	36
Figura 5. Tratamento de mudas com rizobactérias e transplântio para tubetes.	38
Figura 6. Transplântio das mudas para vasos e inoculação do fitonemtoide.	39
Figura 7. Avaliação após 90 dias da inoculação de <i>Radopholus similis</i> em mudas de banana.	40
Figura 8. Escala de notas do nível de dano em raízes de bananeira da cultivar 'Grande Naine', segundo Bridge & Gowen (1993).	41

SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
Lista de figuras	
INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
REVISÃO DE LITERATURA	
3.1. A Bananeira (<i>Musa sp.</i>)	15
3.2. O nematóide cavernícola <i>Radopholus similis</i>	17
3.2.1. Origem, distribuição e características	17
3.2.2. <i>Radopholus similis</i> em bananeira	20
3.3. Principais práticas de controle de <i>Radopholus similis</i>	23
3.3.1. Uso de nematicidas	24
3.3.2. Rotação de culturas.	25
3.3.3. Uso de variedades resistentes	27
3.4. Controle biológico de nematóide por rizobactérias	28
METODOLOGIA	
4.1. Isolamento e preservação de bactérias.	34
4.2. Estudo <i>in vitro</i> da toxicidade dos Isolados bacterianos a <i>Radopholus similis</i>	34
4.2.1. Extração de <i>Radopholus similis</i> de mudas de bananeira micropropagadas	34
4.2.2. Seleção <i>in vitro</i> de rizobactérias	36
4.3. Biocontrole de <i>Radopholus similis</i> por rizobactérias em casa de vegetação	37
RESULTADO	43
DISCUSSÃO	49
CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

I. INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* sp.) é uma planta de clima quente e úmido, pertencente à família das Musáceas. Originária da Índia é considerada a fruta símbolo dos países tropicais, de maior cultivo e consumo no mundo, e presente na mesa de todas as camadas sociais da população (MOREIRA, 1999).

A Índia é o maior produtor mundial de banana e o Brasil ocupa o quarto lugar, com cerca de 8 % do que é produzido mundialmente. O estado da Bahia, em 2008, foi responsável por 19% da produção da região nordeste, e é tido como um dos principais estados produtores de banana do país (FAO, 2010).

A cultura da banana apresenta uma série de problemas fitossanitários, destacando-se o nematoide *Radopholus similis*, em razão dos danos que ele pode vir a causar à planta e pela sua ampla distribuição nas principais regiões produtoras do mundo (KIMATI *et al.*, 2005).

O *Radopholus similis* é um endoparasito migrador, o qual penetra nas raízes da bananeira e migra pelos tecidos radiculares, podendo chegar até o rizoma, ocasionando a desintegração dos tecidos e formando cavidades, motivo pelo qual é chamado vulgarmente de nematoide cavernícola (THORNE, 1961).

As principais estratégias empregadas no controle de *R. similis* incluem o emprego de nematicidas, uso de variedades resistentes, e a rotação de culturas. O controle químico apresenta várias inconveniências, por ser onerosa e inviável economicamente em algumas áreas infestadas, além de apresentar uma série de desvantagens com relação à contaminação do meio ambiente e humana (KUBO *et al.*, 2011).

O uso de variedades de banana resistentes é uma forma eficiente de controlar pragas e doenças, contudo apresentam determinados obstáculos, como o considerável período de tempo para sua obtenção e o desenvolvimento de plantas com características agrônomicas desejáveis para a aceitação do produtor (STARR *et al.*, 2002). No caso dos nematoides, são poucas as variedades resistentes disponíveis para o agricultor e a resistência geralmente é direcionada a poucas espécies (VILAS BOAS *et al.*, 2002).

Outra estratégia de controle para nematoides e de difícil aceitação pelo produtor, é a rotação de cultura. Isso é decorrente da dificuldade do produtor de integrar diferentes culturas rentáveis, economicamente, no seu sistema de produção (BARKER *et al.*, 1998).

Segundo a OILB (Organização Internacional para Controle Biológico e Integrado contra Animais e Plantas Nocivas), a produção integrada preconizada para diversas fruteiras, visa gerar alimentos e demais produtos de alta qualidade, mediante a aplicação de recursos naturais e regulação de mecanismos para a substituição de insumos poluentes com garantia da sustentabilidade da produção agrícola (ANDRIGUETO, 2002).

Diante desse contexto, estudos voltados para o uso de plantas antagonistas estão sendo desenvolvidos (RITZINGER *et al.*, 2003). Pelo fato dessas plantas proporcionarem o aumento da atividade de uma microbiota antagonista ao nematoide, conferindo a possibilidade da realização de pesquisas voltadas para a seleção de micro-organismos capazes de controlar a moléstia causada por fitonematoides.

Sabe-se, há décadas, que certas bactérias benéficas são capazes de promover o controle de enfermidades tanto por antagonismo direto, como por antibiose, competição por nutrientes e nichos ecológicos, produção de enzimas, predação e parasitismo, quanto por mecanismos indiretos, como por indução de resistência sistêmica (BAKKER *et al.*, 2003; VAN LOON *et al.*, 1998).

As rizobactérias benéficas, intituladas PGPR (“plant growth-promoting rhizobacteria”), promovem crescimento e aumentam a produtividade de culturas. Estudos têm demonstrado que a aplicação de rizobactérias em sementes ou na raiz pode induzir resistência a múltiplos patógenos, em tecidos foliares e radiculares, como vírus, fungos, bactérias e nematoides (KLOEPPER *et al.*, 1999).

De acordo com Romeiro (2007), além da produção de substâncias promotoras de crescimento e antimicrobianas, como reguladores de crescimento vegetal e sideróforos, a principal vantagem de se trabalhar com rizobactérias está na abundância de sua ocorrência no solo, na facilidade de

produção em larga escala e armazenamento, e de serem adaptáveis às tecnologias de formulações comerciais.

Para o mesmo autor, o controle biológico de doenças em plantas, utilizando antagonistas naturais diretos ou aqueles capazes de induzir resistência, pode ser um método de grande aceitação e eficiência para o cultivo sustentável de plantas.

Devido à bananicultura apresentar grande importância econômica e social, e dos sérios problemas fitossanitários, dentre estes, a moléstia causada pelo nematoide *R. similis*, este projeto visa diminuir os danos causados pelo fitonematoide em mudas de bananeira, por meio do controle biológico com o uso de rizobactérias.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Isolar rizobactérias de plantas antagonistas a nematoides e avaliar seu potencial no controle biológico de *Radopholus similis* e na promoção de crescimento de mudas de bananeira.

2.2. Objetivo Específico

- Isolar bactérias da rizosfera de plantas com propriedades nematicidas, sendo elas crotalária (*Crotalaria juncea*) e cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L.);
- Selecionar *in vitro* os isolados bacterianos que demonstrarem efeito nematicida a *R. similis*;
- Avaliar o potencial dos isolados mais promissores no controle do nematoide *R. similis* e na promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira em casa de vegetação.

III. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A bananeira (*Musa spp.*)

A bananeira (*Musa spp.*) é de clima quente e úmido, amplamente disseminada na região tropical. A banana, originária da Índia, é a mais popular de todas as frutas, sendo consumida no mundo inteiro (MOREIRA, 1999).

De acordo com a classificação botânica, as bananeiras produtoras de frutos comestíveis pertencem à classe da Monocotyledoneae, ordem Scitamineae, família Musaceae, da qual fazem parte as subfamílias Heliconioideae, Strelitzioideae e Musoideae. Esta última inclui os gêneros *Ensete* e *Musa* (DANTAS *et al.*, 2004).

O gênero *Musa* apresenta grande importância por constituir o maior número de espécies, principalmente as comestíveis, e ampla distribuição geográfica. O seu cultivo está hoje concentrado em alguns países na América e no continente Asiático, onde encontra condições favoráveis para a sua produção (CERQUEIRA, 2006; DANTAS *et al.*, 2004; NELSON *et al.*, 2006).

A bananeira é um vegetal herbáceo, e apresenta caule subterrâneo, denominado de rizoma, onde se localizam a gema apical e as gemas laterais, que dão origem aos perfilhos. A partir do rizoma saem raízes primárias, sendo brancas e tenras quando novas e saudáveis, tornando-se amareladas e endurecidas com o tempo (SILVA *et al.*, 2004).

O sistema radicular é fasciculado, podendo atingir horizontalmente até cinco metros, dependendo da qualidade da variedade e das condições do solo. A bananeira gera raízes continuamente apenas até a diferenciação floral, simultâneo ao processo de formação de folhas (DANTAS *et al.*, 2004; SILVA, *et al.*, 2004). O pseudocaule é um estipe, formado por bainhas foliares, terminando com uma copa de folhas compridas e largas, com nervura central desenvolvida (NELSON *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2004).

A bananeira propaga-se normalmente pela emissão de novos rebentos. Um processo contínuo, o qual a planta adulta apresenta sempre ao seu redor, em condições naturais, outras bananeiras em diversos estádios de desenvolvimento, o que facilita a disseminação de importantes patógenos, tais como: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Micosphaerella fijense*,

Micosphaerella musicola e *Ralstonia solenacearum* e o nematoide cavernícola *Radopholus similis* (DANTAS *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2004)

O seu fruto, a banana, é considerado um importante alimento por ser fonte de vitaminas e minerais, principalmente potássio, sendo o quarto produto alimentar mais produzido mundialmente, ficando apenas atrás do arroz, trigo e milho (VIEIRA, 2009). A cultura da banana desempenha um grande papel socioeconômico, por permitir a fixação do homem no campo e gerar renda, com mais de 500.000 empregos diretos, além de contribuir para a dieta alimentar de grande parte da população (PAIXÃO, 2008).

Segundo dados da “Food and Agriculture Organization” (FAO, 2008), em 2005 a produção brasileira foi de 6.703.400 t, ficando atrás apenas da Índia. Em 2008, o Brasil manteve a produção de banana em 7.385.196 t, ficando em quarto lugar e a Índia, principal país produtor, com cerca de 23 milhões de toneladas de bananas produzidas.

No Brasil, a produtividade desta cultura esta em torno de 14 t ha⁻¹, muito abaixo do que é apresentando na Índia, com cerca de 35 t ha⁻¹, sendo São Paulo, Minas Gerais e Bahia, os principais estados produtores (FAO, 2010).

Em 2009, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), São Paulo foi o maior estado produtor no Brasil com 1.257.539 t, enquanto que a Bahia, contendo a maior área com bananicultura do país, detém a segunda maior produção, com 1.015.505 t. O nordeste é a principal região produtora do Brasil, alcançando a produção de 2.994.969 t, em outubro de 2010, (IBGE, 2010).

A Região Nordeste apresenta vantagens comparativas para a fruticultura em relação às demais regiões, com liderança na produção e exportação de frutas tropicais, dentre estas a banana. Isso é atribuído a fatores, tais como: o clima, solo, localização, disponibilidade de água para irrigação, custo da mão de obra e ao preço atrativo da terra (IBGE, 2003).

Com o estado da Bahia responsável por 19 % da produção na região nordeste, a bananicultura supera culturas como algodão e laranja, demonstrando sua importância socioeconômica, tanto no agronegócio, como na geração de renda e manutenção da agricultura familiar (IBGE, 2010).

O desempenho das regiões produtoras no Brasil é influenciado por diferenças regionais, incluindo fatores tecnológicos. As regiões Sul e Sudeste foram as que apresentaram os maiores níveis de tecnologia na produção. Os principais pólos produtores de banana no Brasil estão inseridos nas seguintes regiões: Vale do Ribeira (SP), Juazeiro do Norte (BA), Norte de Minas Gerais e o Norte de Santa Catarina (DANTAS *et al.*, 2004).

Quanto ao cultivo, as variedades Maçã, Pacovan, Prata Anã e Terra apresentam maior destaque no mercado interno e, as variedades Nanica, Nanicão e Grande Naine obtêm grande aceitação no mercado externo (SILVA *et al.*, 2004).

Fatores internos e externos influenciam no crescimento e produção das bananeiras. Os fatores internos estão relacionados com as características genéticas da variedade utilizada, enquanto os externos referem-se às condições edáficas, ambientais, agentes bióticos e a ação do homem (BORÉM *et al.*, 2007).

A baixa produtividade no Brasil está relacionada ao baixo nível técnico do cultivo, o que leva a alta incidência de pragas e deficiência nutricional do fruto (SANTOS, 2004). Estudos que visam medidas de controle sustentáveis de fitopatógenos são imprescindíveis para otimização da produção de banana, o que possibilita maior desenvolvimento do agro-negócio, geração de renda e manutenção do pequeno agricultor no campo.

3.2. O nematoide cavernícola: *Radopholus similis*

3.2.1. Origem, distribuição e características

Dentre os diferentes tipos de nematoides, se destacam os parasitas de plantas superiores, devido ao número apreciável de espécies existentes, por se multiplicarem de forma rápida e intensa nos hospedeiros vegetais, e por causarem danos severos e perdas econômicas vultosas (OLIVEIRA *et al.*, 2008)

Aproximadamente 146 espécies de nematoides foram descritas como parasitas associados à rizosfera da bananeira (*Musa spp.*), distribuídas em 43 gêneros. Entretanto, o nematoide *Radopholus similis* é tido como de maior

importância, devido aos prejuízos causados aos bananais no Brasil e no mundo (ARAYA *et al.*, 1995).

O nematoide do gênero *Radopholus* Thorne, 1949, pertencem a família Pratylenchidae, e a subfamília Pratylenchinae. O *R. similis* é caracterizado por apresentar uma estrutura cefálica bem esclerotizada, saliente e arredondada nos machos, pequena e chata nas fêmeas. A cauda em ambos os sexos é cônica, com ponta redonda e irregular (TIHOHOD, 1997).

Os nematoides fitoparasitos de plantas, os quais vivem no solo ou no interior de estruturas vegetais (folhas, caules, e raízes), possuem um órgão similar a uma agulha de seringa, denominado de estilete, com o qual introduzem substâncias nas células, digerindo e sugando o conteúdo destas, se alimentando e introduzindo toxinas nas plantas (PAIXÃO, 2008).

O estilete do macho da espécie *R. similis* é atrofiado e, desta forma, não é considerado parasita, apresentando aparelho digestório degenerado. Ao contrário das fêmeas, as quais possuem esôfago completo e o estilete bem desenvolvido (COSTA, 2000).

Radopholus similis geralmente apresenta reprodução cruzada (anfimixia), podendo ocorrer, excepcionalmente, partenogênese (COSTA, 2000). Conservam o corpo na forma fina e alongada durante toda a vida, exceto na fase de ovo, o que possibilita a movimentação do espécime, nos diferentes estádios juvenis e na fase adulta, em busca do alimento (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Pelo fato de parasitar as células por curto período de tempo, causando a morte rápida destas, o nematoide cavernícola, *R. similis*, migra para outros locais da planta em busca de células saudáveis para se alimentar. Os juvenis e as fêmeas adultas são formas ativas que, em condições adversas, podem sair das raízes para o solo e, posteriormente, invadir raízes saudáveis de outras plantas (SARAH *et al.*, 1996).

A agressividade da população do nematoide sobre a planta hospedeira é consequência da sua capacidade reprodutiva, mediante a velocidade de multiplicação do fitopatógeno e da sua patogenicidade (OLIVEIRA *et al.*, 2008). O que torna ainda mais difícil o desenvolvimento de medidas de controle eficientes e sustentáveis do fitonematoide.

O *R. similis* foi descrito por Cobb em 1893, como resultado de sua visita a República de Fiji, entre 1890 a 1891. A maioria das espécies do gênero *Radopholus* tem sido descrita na Austrália e Nova Zelândia, sendo *R. similis* considerado nativo dessas regiões, porém, existe a possibilidade de ser originário da região Indo-Malaia (MARIN *et al.*, 1998).

Considerado o principal nematoide da bananeira, *R. similis* é encontrado na maioria das regiões produtoras do mundo, com ocorrência em mais de 80 países, segundo Barker (1998). No Brasil foi identificado pela primeira vez em estudos realizados por Carvalho (1959), em raízes de bananeira 'Nanica' no município de Juquiá, SP.

No território brasileiro, o nematoide cavernícola tem causado prejuízos não somente no estado de São Paulo, como também no Rio de Janeiro e demais regiões do país onde ocorreu a expansão da cultura (COSTA, 2000).

Dentre as regiões produtoras de banana, no Brasil, os estados do Ceará, Minas Gerais, Pernambuco e São Paulo são citados como aqueles que apresentam maiores problemas com *R. similis*, devido às altas infestações encontradas nas áreas de produção (SOUZA *et al.*, 1999).

Segundo estudos realizados por Pereira *et al.* (2006), em bananais do Paraná, constatou-se uma densidade populacional de 1.390 espécimes de *R. similis* por grama de raiz. Ritzinger *et al.* (2003), ao realizar estudos em propriedades rurais no pólo Petrolina - PE / Juazeiro – BA, constataram que o *R. similis*, *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp., e o *Rotylenchulus reniformis* são os fitonematóides mais frequentes associados ao sistema radicular da bananeira.

A distribuição de *R. similis* nas diferentes regiões produtora é devida principalmente à preferência por temperaturas entre 24 e 32 °C, uma vez que a reprodução ótima, geralmente sexuada, ocorre próximo aos 30 °C, não se reproduzindo abaixo dos 16 -17 °C ou acima dos 33 °C (SARAH *et al.*, 1996).

Mais de 300 espécies de plantas são hospedeiras de *R. similis*, sendo as preferenciais, a bananeira (*Musa* spp.), pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), *Citrus* spp., e plantas ornamentais como antúrio (*Anthurium andreanum* Linden), filodendro (*Philodendron* spp.), tinhorão (*Calathea* spp.) e gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.). Entre outros hospedeiros de valor econômico estão

o coco (*Cocos nucifera* L.), café (*Coffea arabica* L.), cana-de-açúcar (*Sacharum officinarum* L.) e chá (*Camellia sinensis* (L) Kuntz) (COSTA, 2003).

No Brasil, além da bananeira, *R. similis* já foi constatado nas seguintes espécies: capim-assu (*Andropogon minarum*, (Ness) Kunth), café (*Coffea arabica* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), banana-ornamental (*Helicônia* spp.), fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), maria-pretinha (*Solanum nigrum* L.), cacau (*Theobroma caçãõ* L.), caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e milho (*Zea mays* L.) (COSTA-MANSO *et al.*, 1994).

3.2.2. *Radopholus similis* em bananeira

Independentemente do comportamento do nematoide em termos de fitoparasitismo, a relação parasito-hospedeiro segue um padrão ou modelo básico comum. No solo, os nematoides são atraídos para raízes de plantas por exsudações emanadas destas. Apesar de produzidas em concentrações muito baixas, tais substâncias são percebidas pelos anfídios (quimiorreceptores situados na extremidade anterior do corpo) presentes nos nematoides, orientando-lhes em direção às raízes (OLIVEIRA *et al.*, 2008)

O *R. similis* pode penetrar em qualquer parte da raiz, preferencialmente pelo ápice radicular. As fêmeas e juvenis penetram, se alimentam, e se multiplicam no interior das raízes e do rizoma da bananeira, causando lesões, formando galerias, que mais tarde coalescem e formam necroses, promovendo a redução do volume radicular e comprometendo a absorção de água e nutrientes para a planta (COSTA *et al.*, 1998).

Radopholus similis recebe a denominação de “nematoide cavernícola” devido ao sintoma causado no córtex das raízes e rizomas de bananeiras, resultado do endoparasitismo migratório exercido por este nematóide (O'BANNON, 1977; SARAH *et al.*, 1996).

O ciclo de vida tem duração de três a quatro semanas (20 a 25 dias). No tecido infectado, as fêmeas ovipositam de quatro a cinco vezes por dia durante duas semanas. Os nematoides eclodem depois de 8 a 10 dias e os estádios juvenis requerem entre 10 e 13 dias para completarem seu desenvolvimento, depois de três ecdises subsequentes, originando os adultos machos e fêmeas (BLAKE 1969; MARIN *et al.*, 2002).

O nematoide migra para os tecidos sadios antes que os tecidos atacados sofram necrose ou simplesmente migra para o solo em busca de outra raiz para infectar, e da qual alimentar-se (FERNANDEZ, 1994).

Ao migrar inter e intracelularmente, o fitonematoide se alimenta do citoplasma de células do parênquima cortical, destruindo paredes celulares, extravasando o conteúdo celular e causando cavidades e túneis que necrosam e podem estender-se por toda a região parenquimática. Este problema é agravado pelo movimento contínuo do patógeno no tecido, cuja consequência é a formação de extensas áreas necróticas de coloração avermelhada infectada com todos os estádios do nematoide (MARIN *et al.*, 2002) (Figura 1).



Figura 1. Necroses na raiz e rizoma causadas por *Radopholus similis*.

As cavidades formadas se estendem até a superfície da raiz, formando fissuras longitudinais. Ao movimentar-se e ferir os tecidos das raízes e rizomas, o nematoide cavernícola pode favorecer a entrada de patógenos secundários, como o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, causador do mal-do-panamá (BLAKE, 1969; MARIN *et al.*, 2002).

Com ataque posterior de micro-organismos, a necrose pode evoluir, e atingir o cilindro central, tornando a raiz fraca e quebradiça. Segundo BÁRBARA *et al.* (1999), na cultivar 'Nanicão', suscetível a *R. similis* e resistente ao mal-do-panamá, a infecção causada pelo fungo aumentou significativamente na presença do nematoide. A presença de fungos nas lesões provavelmente aumenta a deterioração da raiz e contribui para a queda das plantas (MARIN *et al.*, 2002).

Em consequência do ataque de nematoides, quando a infestação é severa, ocorre a formação de raízes secundárias, resultando num sistema radicular muito raquítico que não suporta o peso do cacho e a planta cai (COSTA *et al.*, 1998) (Figura 2).



Figura 2. Tombamento da bananeira devido ao ataque de *Radopholus similis*.

Além disso, a destruição dos tecidos das raízes das plantas afeta a absorção de água e nutrientes e enfraquece o sistema de ancoragem da planta. Consequentemente, as plantas podem apresentar crescimento reduzido, menor número e tamanho de folhas, mostrando-se amareladas, redução do peso do cacho e da vida produtiva, com baixa produção, frutos pequenos, prolongamento do ciclo vegetativo e, por sua vez, aumento do período entre colheitas, desenraizamento e tombamento (SARAH *et al.*, 1996; COSTA *et al.*, 1998).

Os casos de tombamento de plantas pela ação do vento ou pelo peso do próprio cacho são frequentes, podendo atingir a perda de até 100% da produção, principalmente de bananeiras do subgrupo Cavendish (COSTA, 2000).

A sobrevivência de *R. similis* em solos de bananais depende da presença do hospedeiro, podendo o nematoide sobreviver nos rizomas e raízes vivos por um longo período. Estudos demonstraram que o *R. similis* não sobrevive no solo por um período maior do que seis meses, na ausência de rizomas e raízes vivas do hospedeiro (LUCY *et al.*, 2004).

O *R. similis* causa severos danos especialmente em solos arenosos, onde as perdas em produção atingem até 100 %. Os solos arenosos, associados às altas temperaturas provavelmente favoreceram a rápida multiplicação do fitopatógeno (COSTA, 2000; PEREIRA *et al.*, 2006).

Em geral, os danos de fitonematoides em cultivos de bananeira são diretamente proporcionais ao aumento de suas populações. Outro fator endógeno que afeta a dinâmica populacional é a presença de variações patogênicas dentro das espécies (COSTA *et al.*, 1998).

Os nematoides movem-se, por si, poucos centímetros por ano. Segundo pesquisas realizada por BLAKE (1969), a movimentação de *R. similis* ocorre em distâncias de dois a três metros por ano. A dispersão do nematoide cavernícola se processa principalmente por meio de material propagativo, implementos agrícolas infestados com nematoide, o trânsito de trabalhadores e animais, o escoamento de água em áreas de declive e águas de irrigação (STOLF, 2006).

Associado ao fato de apresentarem fácil dispersão, disseminação e difícil controle, o nematoide carvenícola é tido como fator importante e limitante para produção de banana em várias partes do mundo (RITZINGER *et al.*, 2003).

3.3. Principais práticas de controle de *Radopholus similis*

A prevenção da ocorrência de fitonematoides em uma dada área agriculturável é a medida ideal e mais eficaz para a manutenção de um cultivo saudável. Uma vez estabelecidos, sua erradicação é quase impossível e o controle se torna uma tarefa difícil, trabalhosa e, muitas vezes, onerosa para o agricultor. A maioria das espécies de nematoides é altamente polífaga e ocorre na bananeira, podendo sobreviver por longos períodos no solo (SARAH, 1998).

Existem muitas técnicas empregadas para o controle de fitonematoides, embora poucas venham se revelando tecnicamente eficientes, economicamente viáveis e ecologicamente aceitáveis. Dentre os métodos existentes, a aplicação de agroquímicos, a rotação de culturas e a utilização de variedades resistentes são os mais empregados, além do desenvolvimento de pesquisas voltadas para o uso de plantas com propriedades nematicidas e o controle biológico.

3.3.1. Uso de nematicidas

Em relação aos nematicidas, os primeiros produtos empregados para controlar nematoides no solo foram o bissulfeto de carbono, o formaldeído e a cloropicrina, seguido pelo brometo de metila (DEMUNER *et al.*, 2008).

Em 1940 foram comercializados como nematicidas a mistura contendo o dicloropropano e dicloropropeno (DD), o diclorobromopropano (DBCP) e o dibrometo de etileno (EDB), todos fumigantes, que se prestavam ao tratamento do solo infestado apenas em pré-plantio, por serem tóxicos. Em diferentes épocas, deixaram de ser produzido o DBCP, por provocar esterilidade em operários das indústrias que o fabricavam, e os EDB e DD, por serem cancerígenos (NUNES *et al.*, 1998).

Os nematicidas mais recentes, que apresentam ação de contato e sistêmica e não são fumigantes, pertencem ao grupo dos organofosforados, dos carbomatos e oxicarbomatos. Entre outros nematicidas pode-se citar o Cadusafós (Rugby®), Terbufós (Counter®), Aldicarbe (Temik®), Carbofurano (Furadan®), os quais estão disponíveis ou estiveram registrados no Brasil (FILHO *et al.*, 1995).

Nematicidas podem ser aplicados visando à redução de nematoides em bananais infestados. No entanto esta forma de controle apresenta várias inconveniências, como o alto custo dos produtos, os resíduos tóxicos nos frutos, intoxicação dos aplicadores pela exposição aos produtos e dos consumidores, contaminações de fontes de água, destruição da microbiota do solo e, em longo prazo, podem favorecer o desenvolvimento da resistência dos nematoides ao produto (VILAS BOAS *et al.*, 2002).

Segundo SILVA (2003), em bananais de Região Meio-Norte do Brasil, nos estados do Piauí e Maranhão, onde *Helicotylenchus multincinctus* é o nematoide mais agressivo, o manejo de fitonematoides é feito com mudas sadias e com a eventual aplicação de nematicidas na cova de plantio. Entretanto, pesquisas têm sido direcionadas para a rotação de culturas durante a reforma dos bananais, utilizando-se braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf), capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), algumas variedades de milho, amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov & Gregory) e crotalária (*Crotalaria* spp.)

3.3.2. Rotação de cultura

A rotação de culturas com plantas não hospedeiras pode afetar a sobrevivência de patógenos, tais como nematoides, insetos e ácaros. Contudo, é necessário o conhecimento das hospedeiras dos patógenos em estudo e a ocorrência de suas espécies na área a ser plantada (RITZINGER *et al.*, 2003).

A supressão é devido à quebra do ciclo de vida dos organismos patogênicos por um determinado tempo, o que dependerá basicamente das condições ambientais, do nível de infestação, da espécie do patógeno, bem como, da presença de outros hospedeiros na área (BARKER *et al.*, 1998). Speijer (1998) afirma que a interrupção no cultivo de plantas hospedeiras, substituindo-as por outras não hospedeiras, reduz a população de nematoides fitoparasitos, que tendem a morrer pela falta de alimento.

Segundo Bridge (1996), o esquema da rotação de culturas deve envolver plantas não hospedeiras, hospedeiras pouco favoráveis, e resistentes, além da cultura principal, a qual é suscetível ao fitonematoide e não deve retornar à área em menos quatro estações. O mesmo autor defende que a adoção de práticas que reduzem a população do patógeno no solo, em áreas infestadas, permite que a próxima cultura se estabeleça e complete o seu crescimento inicial, antes de ser severamente afetada.

De acordo com BARKER *et al.* (1998), para que seja de fácil a adoção dessa prática, deve haver terras disponíveis, a cultura plantada deve oferecer retorno econômico aceitável e apresentar necessidade similar de trabalho e equipamentos.

Na África, rotações com culturas como mandioca e batata-doce mostraram ser eficientes no controle de *R. similis* e *H. multincinctus* em bananeira. Entretanto, pelo menos 15 meses são necessários para reduzir significativamente as populações dos nematoides (BRIDGE, 1996; SPEIJER, 1998).

A rotação com batata-doce e com gramíneas, tais como: cana-de-açúcar, braquiária e sorgo associado com siratro, proporcionou redução significativa da população de *R. similis* no solo. Sorgo associado à siratro propiciou o melhor rendimento para a bananeira, seguido de cana-de-açúcar e por último de braquiária (ALVES, 1999).

Na Índia, a rotação com arroz, cana-de-açúcar ou algodão suprimiu a população de nematoides e aumentou o rendimento da banana (SUNDARARAJU *et al.*, 2003). Inomoto (1994) recomendou a utilização de melancia e soja-perene em sistemas de rotação para o controle de *R. similis*.

Segundo Sikora *et al.* (1998), existe uma tendência ao desenvolvimento de sistemas mais curtos de produção de banana em grandes áreas comerciais, utilizando mudas micropropagadas, após a rotação com milho, sorgo, abacaxi, entre outras. Alguns agricultores têm optado por reformar os bananais severamente atacados e replantá-los com mudas micropropagadas, após a rotação com culturas não hospedeiras (SPEIJER, 1998).

A alternativa que tem se mostrado bastante atrativa para os agricultores, é o uso de plantas antagonistas em esquema de rotação ou em plantio consorciado com a bananeira. Substâncias químicas com efeito nematicida têm sido isoladas de algumas dessas plantas, além de apresentarem capacidade de fixação de nitrogênio da atmosfera, de produzirem expressivos volumes de matéria orgânica, com o aumento da atividade de fungos antagonistas ou nematófagos, e melhoria das características gerais do solo (RITZINGER *et al.*, 2003).

Barker *et al.* (1998), classificam estas plantas antagonistas como ativas, quando produzem substâncias nematicidas, e como passivas, quando não são considerados bons hospedeiros para os nematoides ou quando favorecem o estabelecimento de micro-organismos antagonistas aos nematoides. Sundararaju *et al.* (2003) afirmam que na cultura da banana, o consórcio com

plantas antagonistas pode dar bons resultados, ao verificarem que crotalária (*Crotalaria juncea* L.), intercalada à banana, reduziu a população de *R. similis* e aumentou o crescimento e rendimento das plantas.

Na rotação de cultura, as práticas podem envolver adubos verdes, plantas armadilhas e de cobertura, plantas antagônicas, gramíneas e pousio, como também, práticas químicas, biológicas e físicas (BARKER *et al.*, 1998).

Bridge (1996) considera que apesar do potencial de plantas antagonistas em esquemas de rotação, este mecanismo de controle só terá maior aceitabilidade pelos agricultores quando as plantas apresentarem algum valor comercial, como é o caso da crotalária e mostarda (*Brassica* sp.), cravo-de-defunto e aspargos (*Asparagus officinalis* L.), cultivados na Índia.

No entanto, existem limitações para o uso das plantas na redução das populações de nematoides, pelo método de rotação de culturas. A presença de muitas espécies de fitonematoides na área, e de espécies de plantas que tenham uma ampla gama de hospedeiros, a dificuldade de abertura de novas áreas para plantio são algumas delas (BARKER *et al.*, 1998).

Segundo Rodrigues *et al.* (2005) as possibilidades e o interesse dos agricultores em realizar rotações ou associações de culturas, são afetados pelas condições de mercado, estas não favorecidas pela infra-estrutura de transporte e comercialização existentes.

3.3.3. Uso de variedades resistentes

A utilização de variedades resistentes é uma maneira altamente recomendável de controlar pragas e doenças. Segundo Kubo *et al.* (2011), o que se tem procurado em programas de melhoramento genético da cultura de banana seria a obtenção de genótipos comerciais resistentes aos principais nematoides.

No Brasil e na Índia, algumas variedades de *Musa* foram testadas, sem sucesso, quanto à resistência a *Musa incognita* e *Musa javanica* (ZEM *et al.*, 1981). Alguns genótipos de *M. acuminata* (grupos Pisang Batuan, Pisang Lidi e Pisang Jarí Buaya) são resistentes a *R. similis*. Um genótipo do grupo Pisang Jarí Buaya (acesso III-116) mostrou ser uma planta muito resistente a *R. similis*, mas susceptível a *P. coffeae* e *M. incognita* (PINOCHET *et al.*, 1978)

Experimentos de campo sugerem que a bananeira cv. Prata, do grupo AAB, é resistente a *R. similis*, sem a ocorrência de tombamento (ZEM *et al.*, 1981). Contudo, no caso específico de nematoides, são poucas as variedades de banana resistentes disponíveis para os agricultores e, mesmo assim, a resistência geralmente é direcionada a umas poucas espécies de nematoides consideradas mais importantes para determinadas culturas (VILAS BOAS *et al.*, 2002)

As variações morfológicas, reprodutivas e patogênicas, indicam a existência de diferentes biótipos ou patótipos entre isolados de populações de *R. similis* (FALLA *et al.*, 1995; COSTA *et al.*, 2003). Estudos realizados entre três isolados de *R. similis* provenientes de bananais de Cuba, Brasil e Costa Rica, na cultivar 'Grand Naine', demonstraram que o isolado de Cuba possui uma capacidade reprodutiva maior do que o da Costa Rica, enquanto que o brasileiro ocupou uma posição intermediária (COSTA *et al.*, 2003). Costa *et al.* (2005) observaram maior velocidade de reprodução e patogenicidade nas populações de Cuba, do Brasil (Bahia e Minas Gerais), do que a da Costa Rica, a qual necessitou de um nível populacional bem maior para produzir danos à cultura. Na cultivar 'Grande Naine', populações provenientes da Bahia e Cuba foram mais agressivas do que aquelas provenientes de Santa Catarina, São Paulo e Austrália.

Estas informações são importantes no desenvolvimento de cultivares resistentes e na indicação de medidas preventivas à introdução de patótipos mais patogênicos do que os já existentes ao nível local (PEREIRA, 2006). O incremento de cultivares resistentes não pode ser considerado como sendo a única solução dos problemas causados por fitopatógenos, visto a variabilidade gênica encontrada em populações de *R. similis*, contudo exerce um papel importante no manejo de diversos sistemas de produção (STARR *et al.*, 2002).

3.4. Controle biológico de nematóide por rizobactérias

A rizosfera é um ambiente na interface solo-raiz, onde proliferam numerosos organismos. Normalmente, estes organismos apresentam alguma relação com a planta, em maior ou menor grau de interação, resultando em

efeitos maléficos, nulos ou benéficos para o desenvolvimento do vegetal (MOREIRA, 2002).

Dentre esses organismos, os fitonematoides coexistem na rizosfera com grande diversidade de micro-organismos. Alguns destes organismos, por sua vez, podem apresentar atividade antagônica aos nematoides (SIKORA, 1992).

De forma intuitiva, os maias há 1.000 anos antes de Cristo, entremeavam fileiras de cravo-de-defunto nos campos de plantio para o controle de nematoides, hoje reconhecida como efetiva antagonista a alguns destes, e testada no controle biológico, provavelmente por apresentarem uma microbiota antagônica a estes fitoparasitas (KHAN *et al.*, 1971).

Mais de 200 diferentes organismos são considerados inimigos naturais dos fitonematoides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, ácaros e outros (KERRY, 1990). Entretanto, a busca por táticas de biocontrole, com a utilização de inimigos naturais de fitonematoides, não obteve, ainda, resultados satisfatórios no campo, como por exemplo, no estudo realizado por Zacheo (1993), com organismos predadores e parasitas de fitonematoides, sendo necessária a ampliação de estudos em relação a essa forma de controle.

Bactérias rizosféricas ou rizobactérias existem em grande quantidade na superfície e próximas às raízes de plantas, onde se nutrem de exsudatos e lisados liberados por estas, bem como, fazem da rizosfera nichos ecológicos, onde se abrigam e se protegem do antagonismo da microbiota circundante (LUCY *et al.*, 2004).

Dentre os micro-organismos que habitam a rizosfera das plantas, encontram-se as rizobactérias promotoras de crescimento vegetais, mais conhecidas como PGPR, do inglês Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (rizobactérias promotoras do crescimento de plantas). Segundo Kloepper (1978), estas bactérias colonizam o sistema radicular das plantas, exercendo um efeito benéfico, promovendo o crescimento destas, tornando-as maiores, mais vigorosas, saudáveis e produtivas.

A colonização de micro-organismos na rizosfera deve-se a uma maior disponibilidade de nutrientes em relação ao solo não rizosférico. Esta disponibilidade é resultado da translocação de fotossintatos das folhas, via floema, para as raízes, onde sustentam os processos biossintéticos, sendo

uma parte liberada para o solo rizosférico (ZAGO *et al.*, 2000). De acordo com o mesmo, para prover um efetivo controle biológico, a bactéria precisa estar presente nas raízes, em quantidade suficiente e antes do patógeno causar dano extensivo à planta.

As propriedades físico-químicas da rizosfera têm elevada estabilidade, que associadas ao fornecimento constante de substratos orgânicos e fatores de crescimento favorecem a intensa atividade metabólica das populações, de forma a exercerem influência direta e positiva no tempo de geração microbiano (MOREIRA, 2002).

O patógeno, o hospedeiro e os antagonistas são componentes do controle biológico, que estão sob influência do ambiente, interagindo num sistema biológico (FILHO, 1995). Em relação às rizobactérias, sua extensiva colonização é essencial para alcançar um eficiente biocontrole e estimular o crescimento das plantas (ZAGO *et al.*, 2000).

Segundo Freitas (2001), a capacidade de a bactéria crescer e multiplicar na rizosfera, chamada de “competência de rizosfera”, é influenciado por uma série de fatores, tais como a textura do solo, pH, temperatura, osmolaridade, limitação de nitrogênio, entre outros.

Diversos são os modos de ação utilizados pelas rizobactérias para sobreviver na rizosfera e suprimir o ataque de patógenos às plantas, principalmente sobre os fitonematoides (MELO, 1998). Os modos de ação das rizobactérias sobre o nematoide podem acontecer tanto de forma direta, na qual metabolitos bacterianos atuam na eclosão de ovos, no direcionamento e mobilidade destes, como também de maneira indireta, induzindo resistência sistêmica na planta ou pela modificação dos exsudatos radiculares, cujos compostos possuem efeito sobre o estímulo, atração, penetração, eclosão e no comportamento dos nematoides (OKA *et al.*, 1993).

O método biológico para o controle de fitonematoides pode acontecer pela paralisação do ciclo ou pela redução da capacidade reprodutiva do parasita (MACIEL & FERRAZ, 1996). As rizobactérias ou seus metabolitos desencadeiam reações de hipersensibilidade nas células vegetais, impedindo que as fêmeas dos nematoides consigam energia suficiente para produzir ovos. Além disso, existem relatos que antagonistas do solo podem degradar a massa

gelatinosa que envolve os ovos, reduzindo sua proteção, principalmente pelo aumento da desidratação (ORION & KRITZMAN, 1991).

De acordo com Freitas (2001), a transformação dos exsudatos radiculares em subprodutos pela ação dos micro-organismos pode fazer com que o nematoide não reconheça o estímulo quimiotrópico e continue movimentando-se no solo até esgotar as suas reservas energéticas e morrer sem penetrar nas raízes. Segundo o mesmo autor, alguns gêneros de fitonematoides possuem uma gama de hospedeiro restrita, de forma que o reconhecimento correto do mesmo seja fator primordial para sua sobrevivência.

Em alguns estudos verificou-se a atuação das rizobactérias no reconhecimento do patógeno a planta, em que substâncias produzidas pelas mesmas foram absorvidas pelas raízes, alterando sua composição química, fazendo com que os nematoides não reconhecessem seu hospedeiro. Zuckerman (1983) afirma que o processo de reconhecimento da planta hospedeira pelo nematoide fitoparasita é controlado por interações entre lectinas situadas na superfície da raiz e carboidratos presentes na cutícula do nematoide. Acredita-se que as rizobactérias se liguem às lectinas, interferindo no estabelecimento da relação planta-hospedeiro (STIRLING, 1991).

Dentre as diversas espécies de rizobactérias isolados da rizosfera, e testadas contra fitonematoides, as do gênero *Pseudomonas* são reconhecidamente agressivas colonizadoras de raízes, principalmente as pertencentes ao grupo das fluorescentes, as quais têm sido as antagônicas mais eficazes a esses patógenos (KLUEPFEL, 1993).

O gênero *Bacillus* é conhecido por sua capacidade de formar endósporos, um tipo de proteção para a célula, principalmente contra dessecação e radiação, fazendo com que a célula suporte longos períodos no campo (MADIGAN *et al.*, 2003).

As actinobactérias antagonistas a fitopatógenos, principalmente as do gênero *Streptomyces* (COIMBRA *et al.*, 2004), apresentam um elevado potencial em programas de biocontrole, sobretudo para fitonematoides (CRAWFORD *et al.*, 1993).

Em relação ao estudo de promoção de crescimento de plantas, as bactérias PGPR podem beneficiar o crescimento vegetal de forma indireta, por

meio da inibição do patógeno, ou estabelecer mecanismos diretos, como pela produção de fitorreguladores (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

A promoção de crescimento por rizobactérias em decorrência do controle de patógenos podem envolver processos como competição por nutrientes entre os mesmos, produção de sideróforos e antibióticos, e resistência induzida a doenças.

Antigamente acreditava-se que o controle biológico promovido por rizobactérias com características de PGPR era devido apenas a mecanismos diretos de antagonismo contra patógenos, como antibiose (DUFFY *et al.*, 2004), competição por nutrientes (ELLIS *et al.*, 2000), por nichos ecológicos (BOLWERK *et al.*, 2003), entre outros.

Em algumas situações, é possível que ocorra o controle biológico clássico por antagonismo direto exercido pela PGPR contra o fitopatógeno, com envolvimento dos conhecimentos de antagonismo microbiano, por ação direta da rizobactéria sobre o fitopatógeno (TUZUN, 1995). No entanto existem situações em que apenas o antagonismo microbiano não explica o controle biológico exercido em face da compartimentalização, em nível espacial, dos componentes microbianos da interação (VAN LOON *et al.*, 1998).

Pesquisas têm mostrado que certas bactérias parecem atuar como eliciadoras de RSI (Resistência Sistêmica Induzida), onde o micro-organismo não atua diretamente sobre o patógeno, mas induz uma resposta da planta ativando o sistema de defesa contra estes, e a planta fica sistemicamente protegida contra mais de um patógeno, ao contrário do controle biológico clássico, que implementa o controle de forma mais específica (ROMEIRO, 2007).

Em determinados estudos, as rizobactérias têm proporcionado proteção substancial ao ataque de patógenos veiculados a solos em plantas, principalmente contra fitonematoides. Diversas pesquisas relatam como bactérias rizosféricas apresentam efeito antagônico aos nematoides, podendo ser utilizados no manejo de culturas econômicas, visando reduzir os efeitos deletérios do parasita.

Alguns autores, seguindo a definição proposta por Baker & Cook (1974), afirmam que o controle biológico tem como finalidade a redução da densidade

do inóculo ou das atividades determinantes da doença por um patógeno ou parasita, promovida por um ou mais organismos e pela manipulação do ambiente, hospedeiros ou antagonistas, ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas. O que torna essa forma de controle, associado ao desenvolvimento de tecnologias viáveis a sua aplicação, uma alternativa promissora para o incremento de uma agricultura sem danos ao meio ambiente e ao homem.

As bactérias rizosféricas podem ser aplicadas via tratamento de substrato, imersão de sistemas radiculares de mudas em suspensões bacterianas, rega da planta com suspensão bacteriana e, por imersão de sementes (ROMEIRO, 2001).

De acordo com a literatura disponível as rizobactérias sempre tiveram papel de destaque em relação aos fungos potencialmente agentes antimicrobianos, principalmente por apresentarem-se em grande abundância no solo, serem de fácil manipulação e adaptáveis ao desenvolvimento de fórmulas comerciais (VAN LOON *et al.*, 1998; ROMEIRO, 2001; WHIPPS, 2001). Dessa forma, esses micro-organismos são considerados potenciais agentes promissores de controle biológico de fitopatógenos e no crescimento de plantas.

IV. METODOLOGIA

4.1. Isolamento e preservação de bactérias

O estudo foi conduzido no Laboratório de Microbiologia do Solo e Resíduos Orgânicos na Embrapa Mandioca e Fruticultura. As bactérias foram isoladas de plantas com propriedades nematicidas, crotalária (*Crotalaria juncea*) e cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L.), oriundas de cultivos orgânicos.

Com a suspensão obtida a partir de dez gramas de raiz em 90 mL de solução salina de MgSO_4 a 0,1 M, submetidas, posteriormente, a agitação num agitador orbital por 30 minutos em temperatura ambiente, realizou-se uma diluição seriada em solução salina de MgSO_4 (0,1 M), com fator de diluição de 1:10 até 10^{-5} . Alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-3} e 10^{-4} foram semeadas em placas de Petri contendo os meios “Tryptic soy agar” (TSA, pH 7.2), King B-agar (King, Ward e Rancy, 1954), e espalhadas com auxílio de alça de Drigalsky, e incubadas a 28 °C por 24 a 48 horas.

Após a incubação, ocorreu a seleção de colônias bacterianas individualizadas e divergentes morfológicamente. Para o processo de preservação, as colônias crescidas na placa de Petri foram repicadas assepticamente, em câmara de fluxo laminar, para tubos de ensaio, contendo o meio king B e TSA inclinado, preservados em meio NBY contendo 15 % de glicerina e, posteriormente, armazenados em ultrafreezer a -80 °C.

4.2. Estudo *in vitro* sobre a toxicidade dos isolados bacterianos a *Radopholus similis*

4.2.1. Extração de *Radopholus similis* de mudas de bananeira micropropagadas

O inóculo de *Radopholus similis* foi obtido a partir da multiplicação do nematoide em mudas micropropagadas de bananeira, da cultivar ‘Grande Naine’, cedidas pela CAMPO (Companhia de Promoção Agrícola), sediada na Embrapa Mandioca e Fruticultura. As plantas foram cultivadas em vasos com capacidade para para $2,5 \text{ dm}^3$, contendo 2 kg de solo, previamente autoclavado. Foi realizada, periodicamente, a transferência do inóculo para

novas mudas de banana, com a finalidade de manter a espécie sob condições *in vivo*, para o desenvolvimento de novos estudos (Figura 3).



Figura 3. Mudas micropropagadas da cultivar ‘Grande Naine’ utilizadas para multiplicação do inóculo de *Radopholus similis*.

Para extração dos nematoides a serem utilizados nos bioensaios, amostras de raízes de bananeira, equivalentes a 10 g, foram trituradas em 250 mL de água, por 30 segundos. A suspensão resultante da trituração foi transferida em peneiras sobrepostas de 40 mesh (superior), 100 mesh (meio) e 400 mesh (inferior). Com o auxílio de uma pisseta com água destilada, o material retido na peneira de 400 mesh foi transferido para tubos de centrífuga.

Na extração dos nematoides de amostras de solo rizosférico, mediu-se 100 cm³, que foi transferido para um recipiente plástico, com capacidade para 2 L, lavado em água corrente, homogeneizado e desagregado os torrões. Após o repouso, em alguns segundos, despejou-se a suspensão em peneiras sobrepostas de 35 mesh (superior) e 400 mesh (inferior). Em seguida, transferiu-se o material retido na peneira de 400 mesh para tubos de centrífuga.

Ambas as amostras de raízes e solo, foram submetidas à centrifugação a 3000 rpm (1814,4 g), durante 5 minutos. Cuidadosamente, o sobrenadante foi retirado e adicionado ao sedimento, em cada tubo, 35 mL de solução de sacarose a 50 %. Posteriormente, realizou-se outra centrifugação a 2000 rpm (806,4 g), por 2 minutos. O sobrenadante resultante foi vertido numa peneira de 500 mesh inclinada, e com o auxílio de uma pisseta com água destilada, retirou-se todo o excesso de sacarose e recolheram-se os nematoides num béquer com capacidade para 100 mL (COLLEN & D' HERDE, 1972 modificado).

4.2.2. Seleção *in vitro* de rizobactérias

Os isolados bacterianos obtidos, conforme a descrição do item 4.1, foram transferidos para placa de Petri, contendo os mesmos meios de cultura utilizados no isolamento, e incubados a 25 °C durante 48 horas. As bactérias crescidas no meio foram repicadas para frascos de Erlenmeyer contendo meio líquido TSB (Difco) e incubados durante 14 dias, a 25°C. Após este período, o meio de cultura foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos, e o sobrenadante resultante armazenado em frascos de vidro tipo penicilina, mantidos em freezer (-4 °C) para os testes *in vitro* (Figura 4).



Figura 4. Metabólitos bacterianos conservados a -4 °C.

Para a realização dos ensaios *in vitro*, transferiu-se 150 µL do metabólito bacteriano juntamente com 50µL de uma suspensão aquosa contendo cerca de 10 nematoides previamente desinfestados para eppendorfs, que foram devidamente vedados com parafilme e mantidos a 25 °C.

Realizou-se a avaliação do número de nematoides imóveis, após 24 e 36 horas de exposição nos extratos das culturas bacterianas com auxílio de um microscópio óptico de lente invertida. Feita essa avaliação, os espécimes foram transferidos para eppendorfs contendo água destilada e esterilizada, na qual permaneceram por 24 horas. Após esse período, os nematoides que se mantiveram imóveis foram considerados mortos.

Os isolados selecionados foram avaliados em bioensaios, conduzidos em quatro repetições com seis tratamentos por teste. Cada teste correspondente aos metabólitos de cinco isolados bacterianos mais o controle foram dispostos em delineamento em blocos casualizados. Para a análise dos dados utilizou o programa estatístico SAS Agri, sendo realizada a análise de variância, e as médias originais transformadas ($\arcsen \sqrt{x/100}$) e submetidas ao teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.3. Biocontrole de *Radopholus similis* por rizobactérias em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, esquema fatorial 6 x 2, com seis tratamentos, sendo cinco tratamentos com rizobactérias mais um tratamento controle, e duas condições, com e sem a inoculação de nematoides, com seis repetições por tratamento.

Foram utilizadas mudas de bananeira (Grande Naine), micropropagadas, com quatro semanas de crescimento, cultivadas em substrato composto por uma parte de substrato vegetal Plantmax estaca, uma parte de pó de fibra de coco, adicionados de 0,2% da fórmula PG MIX e 0,2% da fórmula OSMOCOTE, produzidas na CAMPO – Companhia de Promoção Agrícola – sediada na Embrapa Mandioca Fruticultura, localizada em Cruz das Almas.

As mudas foram retiradas do substrato de cultivo e as raízes imergidas em suspensões de rizobactérias previamente preparadas e ajustada concentração, com o auxílio de espectrofotômetro, para $OD_{540} = 0,5$, correspondendo a 10^9 ufc . mL⁻¹, por 10 minutos. Após este período, foi feito o transplântio das mudas inoculadas para tubetes, com capacidade para 300 mL, contendo substrato autoclavado composto por 50 % de vermiculita mais 50 %

de composto orgânico, sendo este último elaborado com 50 % de grama, 20 % de casca de laranja, 20 % de torta de cacau, 10 % de torta de mamona e 30 L de manipueira diluída (uma parte de manipueira para uma parte de água) (NASCIMENTO, 2010) (Figura 5).



Figura 5. Microbiolização de mudas com rizobactérias e transplantio para tubetes. Mudanças de banana com quatro semanas de crescimento (A); suspensões bacterianas (B); processo de microbiolização das mudas (C); mudas transplantadas (D).

Após 45 dias de cultivo, as mudas foram transplantadas para vaso, contendo 2 kg de substrato formado por duas partes de solo argiloso e uma parte de areia (2:1). Este substrato foi primeiramente adubado com 5 % do mesmo composto orgânico utilizado na composição do substrato dos tubetes e autoclavado em seguida por 1 hora. Depois de autoclavado, o solo foi submetido à correção de pH com adição de calcário ($0,5 \text{ t ha}^{-1}$) e, posteriormente, acondicionado em vasos.

Dez dias depois do transplântio, realizou-se a inoculação de 1.000 espécimes de *R. similis* por muda, nos tratamentos correspondentes, com uma seringa de 5 mL. A inoculação foi feita pela aplicação de 3,2 mL de suspensão aquosa contendo os 1.000 espécimes, em dois orifícios próximos ao pseudocaule (Figura 6).



Figura 6. Transplântio das mudas para vasos e inoculação do fitonematoide. (A) Aspecto das mudas após 45 dias de cultivo; (B) e (C) vasos contendo as mudas após o transplântio; (D) Inoculação de espécimes de *Radopholus similis* no sistema radicular da planta.

O experimento foi avaliado após 90 dias da inoculação de *R. similis* no sistema radicular das plantas, por meio de medições da altura das plantas, entre o nível do solo até a inserção das folhas, e do diâmetro do caule. Em seguida, as plantas foram cortadas na altura do coleto, e coletado a parte aérea, o rizoma e o solo (Figura 7).

O solo e o sistema radicular foram armazenados em câmara fria para avaliação do comprimento radicular, do nível de dano das raízes, e a quantificação do número de nematóides juvenis, machos e fêmeas.



Figura 7. Avaliação após 90 dias da inoculação de *Radopholus similis* em mudas de banana. (A) Aspecto das mudas após 90 dias de cultivo em vasos; (B) medição da altura entre o nível do solo até a inserção das folhas; (C) medição do diâmetro do caule.

Para a avaliação do nível de dano das raízes, adotou-se a escala proposta por Bridge & Gowen (1993), pela qual são atribuídas notas de 0 a 4 de acordo com a severidade das lesões nas raízes. Os dados foram submetidos à transformação logarítmica e, em seguida, analisados por meio do Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. (Figura 8).



Figura 8. Escala de notas do nível de dano em raízes de bananeira da cultivar 'Grande Naine', segundo Bridge & Gowen (1993). Para aferir a severidade das lesões nas raízes, pelo *Radopholus similis*, foram atribuídas notas 0 (A); 1 (B); 2 (C); 3 (D); 4 (E).

A extração e quantificação da população de *R. similis* no sistema radicular e solo rizosférico das mudas de banana, foi realizada conforme a metodologia proposta por Collen & D'Herde (1972) modificada. A partir da suspensão resultante do processo de extração de *R. similis*, retirou-se uma alíquota de 1 mL para a contagem dos nematoides em lâmina de Peters, com um auxílio de um microscópio óptico (JENKINS & TAYLOR, 1997 modificado).

Os dados da quantificação do número de nematoides no sistema radicular e da população final de nematoides no solo foram submetidos à

transformação logarítmica e, em seguida, analisados por meio do Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

Em relação à avaliação do índice de promoção de crescimento das mudas de bananeira tratadas com rizobactérias, com e sem nematoides, a média das seis repetições do controle, para cada variável avaliada (altura entre o nível do solo até a inserção das folhas, do diâmetro do caule, comprimento radicular, massa da matéria seca do rizoma e da parte aérea) teve valor 100 e os demais valores foram calculados em relação a este. Somados os cinco valores atribuídos, o tratamento controle apresentou índice de crescimento igual a 500.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste F da análise de variância e as médias dos tratamentos comparados pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2001).

V. RESULTADOS

Setenta e sete bactérias foram isoladas a partir de solo rizosférico provenientes de plantas nematicidas, sendo quarenta, oriundas de cravo-de-defunto e trinta e sete de crotalária. Desse total de isolados, vinte e seis apresentaram efeito nematicida, durante os ensaios *in vitro*. Dentre estas rizobactérias, seis isolados produziram metabólitos com efeito nematicida em 24 horas de avaliação, sem a ocorrência do aumento do número de fitopatógenos mortos no período seguinte. Quinze foram antagônicas somente após 36 horas de exposição e cinco causaram a mortalidade dos nematoides no decorrer dos períodos avaliados.

As tabelas 01 e 02 apresentam as percentagens de nematoides mortos por suspensão de metabólitos bacterianos de cravo-de-defunto e crotalária, respectivamente, entre os períodos de 24 horas e 36 horas de avaliação. Em relação à toxicidade dos metabólitos bacterianos, apenas quatro rizobactérias (3 TSA-CD, 4 TSA-CD, 6 TSA-CD e 7 TSA-CD), oriundas de cravo-de-defunto, se destacaram por apresentar atividade antagônica durante os períodos avaliados (Tabela 02).

Em relação às bactérias provenientes da rizosfera de crotalária, apenas um isolado (17 KB-CR), apresentou efeito nematicida em ambos os períodos, com o índice de mortalidade de 100 % (Tabela 02). Os cinco isolados mais promissores para o controle do fitonematoide foram selecionados, para testes *in vivo*, em mudas micropropagadas de bananeira, sob condições de casa de vegetação.

Tabela 01. Percentagem de nematóides mortos em suspensão de metabólitos produzidos por rizobactérias isoladas de cravo-de-defunto, nos períodos de 24 horas e 36 horas de exposição.

Isolado	Nematoides mortos (%)		
	24 horas	36 horas	
11 KB-CD	67,67 aA	84,37 aA	
12 KB-CD	66,82 aA	83,09 aA	
13 KB-CD	79,44 aA	93,92 aA	Cravo-de-defunto
14 KB-CD	58,12 aA	63,92 bA	Meio King B
15 KB-CD	63,17 aA	68,54 bA	
Controle	33,75 aA	36,25 bA	
3 TSA-CD	56,66 aA	79,16 aA	
4 TSA-CD	70,08 aA	90,17 aA	
5 TSA-CD	45,23 aA	55,41 bA	Cravo-de-defunto
6 TSA-CD	71,18 aA	91,42 aA	Meio TSA
7 TSA-CD	63,53 aB	92,85 aA	
Controle	26,82 bA	40,00 bA	
8 TSA-CD	72,49 aA	75,83 aA	
9 TSA-CD	62,27 aA	79,72 aA	
10 TSA-CD	70,83 aA	84,58 aA	Cravo-de-defunto
11 TSA-CD	58,09 aA	80, 41 aA	Meio TSA
12 TSA-CD	59,72 aA	88,33 aA	
Controle	28,03 aA	45,68 bA	

Letras minúsculas comparam os tratamentos em cada período e letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos entre os períodos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

Tabela 02. Percentagem de nematóides mortos em suspensão de metabólitos produzidos por rizobactérias isoladas de crotalária, nos períodos de 24 horas e 36 horas de exposição.

Isolado	Nematoides mortos (%)		
	24 horas	36 horas	
16 KB-CR	68,19 bA	83,19 bA	
17 KB-CR	100,00 aA	100,00 aA	Crotalária
18 KB-CR	74,16 bA	74,16 bA	Meio King B
19 KB-CR	73,74 bA	79,16 bA	
Controle	47,50 bA	61,66 bA	
22 KB-CR	79,16 aA	100,00 aA	
20 KB-CR	87,50 aA	100,00 aA	Crotalária
21 KB-CR	74,16 aA	74,16 bA	Meio King B
Controle	45,83 aA	58,33 bA	
6 TSA-CR	83,33 aA	87,49 aA	
7 TSA-CR	75,41 aA	75,41 aA	
8 TSA-CR	95,83 aA	95,83 aA	Crotalária
9 TSA-CR	81,25 aA	93,75 aA	Meio TSA
10 TSA-CR	72,50 aA	93,75 aA	
Controle	46,25 aA	56,25 bA	
16 TSA-CR	65,84 aA	73,61 aA	
17 TSA-CR	71,87 aA	81,24 aA	
18 TSA-CR	63,75 aA	81,87 aA	Crotalária
19 TSA-CR	74,16 aA	89,58 aA	Meio TSA
20 TSA-CR	55,27 aA	74,44 aA	
Controle	35,29 bA	47,91 aA	

Letras minúsculas comparam os tratamentos em cada período e letras maiúsculas comparam os mesmos tratamentos entre os períodos. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

No ensaio em condição *in vivo* não foram observadas diferenças estatísticas no nível de dano do nematoide *R. similis* às raízes, como também, no número de fêmeas, machos e juvenis presentes no sistema radicular e no solo (Tabela 03, 04 e 05).

Tabela 03. Nível de dano nas raízes de mudas da cultivar 'Grande Naine' devido ação do nematoide *Radopholus similis*.

Tratamento	Notas
3 TSA-CD	1,00
4 TSA-CD	1,12
6 TSA-CD	0,95
7 TSA-CD	0,95
17 KB-CR	1,19
Testemunha	1,2
CV (%)	19,75

Não houve significância na análise de variância.

Tabela 04. Quantificação do número de *Radopholus similis* nas raízes.

Tratamento	Número de nematoides nas raízes		
	Fêmeas	Machos	Juvenis
3 TSA-CD	45.136,17	7.849,41	22.658,56
4 TSA-CD	44.361,41	6.767,84	22.994,59
6 TSA-CD	32.634,51	7.329,73	15.626,25
7 TSA-CD	33.639,83	4.876,50	15.471,25
17 KB-CR	33.683,60	5.849,76	17.800,39
Testemunha	29.909,06	4.799,19	15.992,34
CV (%)	39,29	52,07	35,63

Não houve significância na análise de variância.

Tabela 05. Quantificação do número de *Radopholus similis* no solo.

Tratamento	Número de nematoides no solo		
	Fêmeas	Machos	Juvenis
3 TSA-CD	8.211,80	2.966,94	3.407,71
4 TSA-CD	11.600,66	2.628,16	5.114,26
6 TSA-CD	9.380,03	2.213,66	3.295,68
7 TSA-CD	8.114,03	2.097,56	3.717,89
17 KB-CR	8.515,21	1.853,09	3.152,25
Testemunha	9.886,81	3.214,17	3.202,74
CV (%)	46,34	57,79	70,06

Não houve significância na análise de variância.

Na análise do Índice de Crescimento de Planta (ICP), onde foram testadas as condições com e sem nematoides, bem como, a interação entre as rizobactérias e os fitonematoides em mudas de bananeira micropropagadas, pode-se verificar resultados significativos ($p < 0,05$) para tratamentos sem nematoides, como consta nas tabelas abaixo.

Tabela 06. Análise de variância do índice de crescimento das mudas de bananeiras microbiolizadas com rizobactérias, na presença e ausência de fitonematoides e da interação destes.

FV	GL	QM
		ICP
Tratamentos	5	7805,59**
Nematoide	1	129967,9**
Trat. x Nemat.	5	6879,16*
Erro	58	2136,81
CV (%)		8,85
Média Geral		522,18

** e * significativo a 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

Tabela 07. Valores médios do Índice de Crescimento de Plantas (ICP) para presença e ausência de nematoides.

Nematóide	ICP
Sem	564,05 a
Com	477,84 b

Média seguida por diferentes letras nas colunas pertencentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5 % de probabilidade.

Tabela 08. Valores médios do Índice de Crescimento de Plantas (ICP) em função dos tratamentos e nematoides.

Tratamentos	ICP	
	Sem	Com
3 TSA-CD	580,13 aA	507,18 aB
4 TSA-CD	555,53 aA	412,63 bB
6 TSA-CD	561,43 aA	491,58 aB
7 TSA-CD	578,00 aA	484,90 aB
17 KB-CR	609,21 aA	480,52 aB
Controle	500,00 bA	500,00 aA

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de F a 5 % de probabilidade.

Na tabela 08, em relação ao índice de crescimento de planta, todos os tratamentos no ensaio sem a inoculação de *R. similis* apresentaram resultados significativos, e os tratamento com as rizobactérias 3 TSA-CD, 7 TSA-CD e 17 KB-CR se destacaram em relação aos demais isolados, por apresentarem resultados superiores a estes. Para os tratamentos com rizobactérias e nematoides, o correspondente a 4 TSA-CD apresentou resultado inferior em relação as demais rizobactérias e ao controle.

VI. DISCUSSÃO

As bactérias são micro-organismos mais abundantes na rizosfera das plantas e podem apresentar efeito antagônico a vários patógenos, inclusive aos fitonematoides (BECKER *et al.*, 1988). Segundo a literatura, algo que pode aumentar as chances de obtenção de rizobactérias eficientes para o biocontrole é isolá-las da rizosfera de plantas reconhecidamente antagônicas aos nematoides parasitas de culturas comerciais.

As plantas antagonistas a nematoides possuem em sua rizosfera, bactérias distintas daquelas encontradas em plantas não antagonistas. Tais bactérias têm maior potencial no controle de fitonematoides, destacando-se as encontradas na rizosfera de algumas leguminosas, tais como: *Mucuna deeringiana*, *Crotalaria juncea* e *Tagetes patula* L. (KLOEPPER *et al.*, 1991),

De acordo com o mesmo autor, o isolamento de bactérias das raízes destas plantas pode aumentar em até seis vezes as chances de encontrar isolados antagônicos ao fitonematoide, em testes *in vivo*. Partindo desse princípio, realizou-se a coleta de solo rizosférico e raízes de plantas com propriedades nematicidas, crotalária (*Crotalaria juncea*) e cravo-de-defunto (*T. patula* L.).

Segundo Kloepper *et al.* (1991), muitas rizobactérias não crescem em meio de cultura, possivelmente por serem mais ricos em nutrientes do que o ambiente rizosférico ou devido ausência de compostos orgânicos presentes somente em exsudados radiculares. Estudos realizados pelos mesmos, em que testaram diferentes meios de culturas, constataram maiores populações bacterianas em isolamentos realizados com meios considerados pobres, como o meio Trypic Soy Agar (TSA).

Dessa forma, os meios de cultivos, King B-Agar e Trypic Soy Agar (TSA), utilizados no processo de isolamento foram adequados para a obtenção de isolados. Do total de 77 isolados obtidos, 33 % apresentaram efeito nematicida ao *Radopholus similis*, nos ensaios *in vitro*, o que corresponde a treze rizobactérias oriundas de cada planta, cravo-de-defunto e crotalária.

Em relação ao índice de mortalidade promovido pelos metabólitos bacterianos, houve uma variação de 56,6 % a 100 % entre os isolados. Pode-

se observar, também, uma distinção do número de *R. similis* mortos ao longo dos períodos avaliados (24 e 36 horas).

Das rizobactérias avaliadas, 7,8 % apresentaram toxicidade ao *R. similis* observados após 24 horas de exposição, sem aumentar o índice de mortalidade no período seguinte da análise. A mortalidade de fitonematoides no período de exposição de 36 horas foi de 19,5 % e, somente, 6,5 % obteve efeito nematicida no decorrer dos dois períodos avaliados.

Em estudos conduzidos por Sousa *et al.* (2006), avaliando o controle de *Meloidogyne incógnita* em mudas de tomateiro por actinobactérias, verificou-se uma taxa de mortalidade de 37 % a 98,2 %, em relação ao tratamento controle. Já Paixão (2008), ao avaliar actinobactérias no controle do *R. similis*, em ensaio semelhante, observou uma taxa de mortalidade entre 72 % e 100 %.

Peixoto (2011), avaliando a taxa de mortalidade de *R. similis* em função do tempo de exposição em metabólitos bacterianos, observou resultados significativos a partir de 24 horas e ao longo de 36 horas de avaliação. Após 42 horas, 100 % dos espécimes encontravam-se mortos, não mantendo diferença significativa em relação ao tratamento controle. Dessa forma, nos testes *in vitro* deste estudo, os períodos de 24 e 36 horas foram tidos como mais apropriados para avaliação do potencial efeito antagônico dos isolados contra o *R. similis*.

O mesmo foi relatado por Coimbra & Campos (2005), ao testar exsudados de actinobactérias e constatar a ocorrência de uma mortalidade significativa de J2 de *Meloidogyne javanica*, após 24 horas de avaliação.

Algumas rizobactérias produzem enzimas e metabólitos secundários com efeito nematicidas (STIRLING, 1991; OKA *et al.*, 1993). Segundo Kell *et al.* 1990, os compostos produzidos pelas bactérias rizosféricas podem agir no controle de micro-organismos por diversos mecanismos, como por antibiose e indução de resistência sistêmica. Becker *et al.* 1998, ao realizar ensaios *in vitro* com mais de 5.000 rizobactérias de diferentes plantas, observaram que apenas 1 % dos isolados produziu substâncias que causaram inibição completa ou parcial do movimento dos juvenis de *M. incógnita*.

Anter *et al.* (1995) observaram uma redução da população de *Rotylenchulus reniformis* e *Tylenchorhynchus latus* no campo ao nível alcançado pelo uso do nematicida fenamifós, com a inoculação de *Bacillus sp.*

na cultura do algodoeiro. Hackenberg & Sikora (1994), ao realizar tratamento de tubérculo de batata com *Agrobacterium radiobacter*, detectaram uma diminuição em até 70 % da eclosão de juvenis de *Globodera pallida*, *in vitro*, e uma significativa redução de 25 % na infectividade destes, em condições de casa de vegetação.

Entretanto, no presente estudo, o teste de biocontrole de *R. similis* pelas rizobactérias em mudas de bananeira não apresentaram resultados significativos, ao contrário do observado nos bioensaios realizados em condições *in vitro*. Pode-se observar uma alta infestação de fêmeas e juvenis, formas infectivas da doença, nas raízes das mudas, comparado com os níveis encontrados no solo. Resultados semelhantes foram apresentados por Peixoto (2011), ao avaliar mudas de banana microbiolizadas com rizobactéria, após 60 dias da inoculação de *R. similis*.

Diferentemente, do atual estudo, cuja avaliação procedeu após 90 dias da inoculação do respectivo patógeno, a pesquisa realizada por Peixoto (2011), constatou que cinco isolados, dos dez testados, reduziram a população final de nematoides no solo, demonstrando que as condições do solo favoreceram a ação das rizobactérias no ciclo do fitonematoide.

Existe uma série de fatores que podem ter influenciado no estabelecimento e atuação dos agentes de biocontrole em questão, dentre estes, o tipo de solo, temperatura, irrigação, além da própria planta. Fatores estes, que podem favorecer ou minimizar a ação das rizobactérias sobre fitopatógenos e, conseqüentemente, proporcionar ou não um melhor desenvolvimento da planta.

Segundo algumas pesquisas, a presença de matéria orgânica no solo estimula a atividade antagônica dos micro-organismos durante o processo de controle, fornecendo substrato necessário para sua multiplicação. Entretanto sua decomposição pode liberar, também, substâncias que retardam ou inibem o crescimento de alguns micro-organismos benéficos.

Outra questão relevante está relacionada ao uso isolado das rizobactérias, o qual pode ter contribuído para o insucesso dos resultados. Segundo Filho (1995), este tipo de controle raramente erradica os patógenos, pois depende da manipulação do equilíbrio biológico existente no solo, sendo

que o aumento da variedade da população microbiana, por meio da aplicação em mistura dos isolados bacterianos, potencializa o controle efetivo do patógeno em questão. Além disso, a possibilidade de se encontrar isolados eficientes para o controle de fitonematoídeos aumenta com a diversidade de espécies de plantas usadas para o isolamento das rizobactérias (COIMBRA *et al.*, 2005).

Segundo alguns autores, em relação ao estudo de promoção de crescimento de plantas, não há uma clara separação entre este e o controle biológico induzido por inoculantes de bactérias. Os efeitos benéficos exercidos pelas PGPR são realizados pelo estímulo ao crescimento da planta ou por meio da proteção microbiológica (ZAGO *et al.*, 2000).

Neste estudo, pode-se verificar resultados significativos na promoção de crescimento das mudas de bananeira micropropagadas, microbiolizadas com bactérias rizosféricas na ausência do fitonematoídeo *R. similis*.

As bactérias isoladas não demonstraram efeitos significativos no controle *in vivo* de *R. similis*, mas apresentaram bons resultados para a promoção do crescimento das plantas.

Com relação ao índice de crescimento das mudas testadas nos ensaios sem nematoídeos, todos os isolados apresentaram valores superiores ao controle. Em contra partida, os tratamentos com nematoídeos não apresentaram resultados significativos, em comparação aos tratamentos sem nematoídeos, entre as quais, a bactéria 4 TSA-CD conteve resultado inferior em relação as demais rizobactérias e ao controle.

A ausência de nematoídeos propiciou maiores índices de crescimento das mudas de bananeira, com a exceção da testemunha, onde não houve diferenças entre ausência e presença de *R. similis*. Desta forma, pode-se concluir que a promoção de crescimento destas plantas não foi em decorrência ao controle biológico do fitopatógeno, mas sim, por outros fatores, como pela produção de regulares de crescimento vegetal e de outros compostos.

Existem diferentes mecanismos diretos que podem promover crescimento das plantas, como produção de fitorreguladores, aumento da disponibilidade de nutrientes pela fixação de N₂ ou solubilização de P

(ROMEIRO, 2007). Sendo assim, futuros testes são necessários para estudar os mecanismos envolvidos na atuação dos isolados em destaque.

Mediante a proposta de desenvolvimento sustentável da agricultura com a implantação de tecnologias para o controle de doenças, sem o uso de produtos químicos, os quais prejudicam o ecossistema, fazem-se necessário a realização de estudos relacionados à planta e o meio onde são isolados os agentes de biocontrole, observados a capacidade de colonização destes, bem como, a aplicação das rizobactérias em combinações de isolados e os mecanismos que envolvem suas interações com a planta e o patógeno.

VII. CONCLUSÕES

- As rizobactérias isoladas de plantas com efeito nematicida produzem metabólitos tóxicos a fitonematoides, em condições *in vitro*.
- A produção de metabólitos tóxicos a *Radopholus similis*, *in vitro*, não deve ser o único método de seleção de rizobactérias para controle do nematoide cavernícola em mudas micropropagadas de banana.
- Rizobactérias selecionadas para fins de controle de nematoides *in vitro* podem apresentar características de promoção do crescimento de plantas.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. J. A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. **Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2 ed., 585p.,1999.

ANDRIGUETO, J. R. Marco legal da produção integrada de frutas do Brasil. **Brasília: MAPA/SARC**, 60 p. 2002.

ANTER, E.A., ABD ELGAWAD, M.M. & ALI A.H. Effects of fenamiphos and biocontrol agents on cotton growing in nematode-infested soil. **Anzeiger fuer Schaedlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz**, v.68, p.12-4, 1995.

ARAYA, M.; CENTENO, M; CARRILLO, W. Densidades poblacionales y frecuencia de los nematodos parásitos del banano (Musa AAA) en nueve cantones de Costa Rica. **Corbana**, San José, v. 20, p. 6-11, 1995.

BAKKER, P. A. H. M.; RAN, L. X.; PIETERSE, C. M. J.; LOON, L. C. Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.25, p.5-9, 2003.

BÁRBARA, A. L.; CARES, J. E.; TENENTE, R. C. V. Influência do nematóide cavernícola sobre a fusariose das cultivares de bananeira maçã e nanicão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, supl., p. 343, 1999. Resumo.

BARKER, K. R.; KOENNING, S. R. Developing sustainable systems for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto,. v. 36, p. 165-205, 1998.

BECKER, J.O., ZAVALETA-MEJIA, E., COLBERT, S.F., SCHROTH, M.N., WEINHOLD, A.R., HANCOCK, J.G., GUNDY, S.DV., VAN-GUNDY, S.D. Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. **Phytopathology**, v.78, p.1466-1469, 1988.

BETTIOL, W. MORANDI, M. A. B. Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, ed.1, p. 341, 2009.

BLAKE, C. D. Nematodes parasites of bananas and their control. In: **Nematodes of tropical crops**. **St. Albans: Tech. Commun. Commonw. Bur. Helmith**, n.. 40, p. 109 -132, 1969.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantiation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, n.1-2, p.248-54. 1976.

BRIDGE, J. & R. GOWEN. Visual assessment of plant parasitic nematode and weevil damage on bananas and plantain. p. 147-154, 1993.

BRIDGE, J. Nematode management in sustentable and subsistence agriculture. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v 34, p.201-221, 1996.

BOLWERK, A.; LAGOPODI, A.-L.; WIJFJES, A. H. M.; LAMERS, G. E. M.; CHIN-A-WOENG, T. F. C.; LUGTENBERG, B. J. J.; BLOEMBERG, G. V. Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicislycopersici*. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v.16, n.11, p.983-993, 2003.

BORÉM, A.; ROMANO, E.; SÁ, F. G. Biotecnologia e organismos transgênicos. **Fluxo gênico e Transgênico**. 2 ed. Ed. UFV, Viçosa, 2007.

CARVALHO, J. C. O nematóide cavernícola e seu aparecimento em São Paulo. **Biológico**, v.25, n.9, p.195-198, 1959.

CERQUEIRA, R. M. C. Rizobactérias no controle biológico do Mal-do-Panamá e crescimento de plantas de bananeira, **Dissertação de Mestrado**, UFBA, 2006.

CHEN, Y., MEJ, R., LIU, L.; KLOEPPER, J.W. The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in chinese agriculture. In: Utkhede, R. S.; Gupta, V. K. (Eds). **Management of Soil Born Diseases**. Ludhiana: Kalyani Publishers, pChapter v.8, p.165-184,1996.

CRAWFORD, D. L.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M.; OUSLEY, M. A. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. **Applied and Environmental Microbiology**, v.59, n.11, p. 3899-3905, 1993.

COIMBRA, J.L.; CAMPOS, V.P. Efeito de exsudatos de colônias e de filtrados de culturas de actinomicetos na eclosão, motilidade e mortalidade de juvenis do segundo estágio de *M. javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.232-238, 2005

COIMBRA, J. L, GARRIDO, M. da S., SOUZA, C. S., SOARES, A. C. F. Efeito de exsudatos de colônias *Streptomyces* sp. na mobilidade e mortalidade de *Scutellonema bradys*. **Summa Phytopathologica**. Botucatu. No prelo, 2004.

COLLEN, N. W. & D^o HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **State Agricultural Research Centre**, Belgium, 1972.

COSTA, D. C.; CARES, J. E.; GOMES, J. E.; SHARMA, R. D. Variabilidade da reprodução de *Radopholus similis* em bananeira cv. Grande Naine (AAA). **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 251-251, 2003.

COSTA, D. C.; CARES, J. E.; GOMES, A. C.; SHARMA, R. D. Reprodução e patogenicidade de *Radopholus similis* em *Musa spp.* e *Citrus latifolia*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 174-174, 2005. Resumo.

COSTA-MANSO, E. S. B. G.; TENENTE, R. C. V.; FERRAZ, L. C. C. B.; OLIVEIRA, R. S.; MESQUITA, R. Catálogo de nematóides fitoparasitos encontrados associados a diferentes tipos de plantas no Brasil. **Brasília: EMBRAPA**, 1994.

DANTAS, J. L. L.; FILHO, W. S. S. Classificação botânica, origem e evolução. **Frutas do Brasil**. V. 1, 2004

DEMUNER, A. J.; LONGUE, F.M.; BARBOSA, L.C.A. Síntese e avaliação da atividade nematicida derivados da piperazina. **Eclética Química**, São Paulo, v.26, p.11-24, 2008. Disponível em: http://www.sielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0010046702001000100001&lng=pt&nrm=150. Acesso: 12 de março de 2011.

DUFFY, B.; SCHOUTEN, A.; RAAIJMAKERS, J.-M. Pathogen selfdefense: mechanisms to counteract microbial antagonism. **Annual Review of Phytopathology**, v.41, p.501-538, 2003.

ELLIS, R. J.; TIMMS WILSON, T. M.; BAILEY, M.J. Identification of conserved traits in fluorescent pseudomonads with antifungal activity. **Environmental Microbiology**, v.2, p.274-284, 2000.

FALLAS, G. A.; SARAH, J. L.; FARGETTE, M. Reproductive fitness and patogenicity of eight *Radopholus similis* isolates on banana plants (*Musa* AAA cv. Poyo). **Nematropica**, v. 25, p.135-141, 1995.

FAO. Base de dados Estatísticos, 2005/2008. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=740_. Acesso em: 17 de fevereiro de 2011.

FAO. Base de dados Estatísticos, 2005. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=740_. Acesso em: 17 de fevereiro de 2011.

FERNANDEZ, A. El banano em Ecuador; cultivo-plagas-enfermidades. **Guayaquil**, Ecuador, C&C. 303p. 1994.

FILHO, A. B.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Princípios e conceitos. **Manual de Fitopatologia**. V.1. Ed. Agronômica Ceres, Ltda., SP. 1995.

FREITAS, L. G. Rizobactérias versus nematóides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 26, 2006, Campos dos Goytacazes. Anais. Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual Norte Fluminense – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, p 45-47, 2006.

FERREIRA, D.F. **Sisvar versão 4.6**. Lavras: DEX/UFLA, 2001. 32p

FREITAS, L.G. Rizobactérias versus nematóides, 2001. Disponível em: <http://www.ufv.br/dpf/labnematologia/rizo.pdf>. Acesso: 28 de maio de 2011

HACKENBERG, C. & SIKORA, R.A. Influence of temperature and soil moisture on the biological control of the potato-cyst nematodes *Globodera pallida* using the plant–health-promoting rhizobacterium *Agrobacterium radiobacter*. **Journal of Phytopathology** v. 142, p. 338-344, 1994.

INOMOTO, M. M. Reação de dez plantas ao nematóide cavernícola, *Radopholus similis*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 21-27, 1994.

IBGE, 2003, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal, v.30, 2003, Brasil. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2003/comentario.pdf>. Acesso: 17 de fevereiro 2011.

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático de produção Agrícola- LSPA, outubro de 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=ba&tema=lavourapermanente2009>. Acesso: 17 de fevereiro de 2011.

JENKINS, W. R. & TAYLOR, D. P. **Plant Nematology**. 3.ed. Sao Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1997.

KEEL, C.; WIRTHNER, P. H.; OBERHANSLI, T.H.; VOISARD, C. BURGER, U.; HAAS, D.; DEFAGO, G. Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: role of

antibiotic 2,4-diacetylphoroglucino in the suppression of Black root rot of tabaco. *Symbiosis*, v.9, p. 327-342, 1990.

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

KHAN, A. M.; SAXENA, S. K.; SIDDIQI, Z. A. Efficacy of *Tagetes erecta* in reduction root infesting nematodes of tomato and okra. *Indian Phytopathology*, v. 24, p. 166-169, 1971. In: ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de enfermidades de plantas: fundamentos**. Visçosa: Ed.UFV, 269p. 2007

KIMAT, H.; AMORIM, L.; REZENDE, M.A.J.; FILHO BERGAMIN, A.; CAMARGO, A. E. L. Doenças das plantas cultivadas. **Manual de Fitopatologia**, v.2, p.112-114, 2005.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: International Conference on Plant Pathogenic Bacterial. **Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacterial**, Angers: INRA, p.879-882, 1978.

KLOEPPER, J.W.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; McINROY, J.A. COLLINS, D.J. Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms. *Plant and Soil*, v.136, p. 95-102, 1991.

KLOEPPER, J.W.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; ZEHNDER, G.W.; MURPHY, J.F.; SIKORA, E.; FERNANDEZ, C. Plant root bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extention to systemic and foliar diseases. **Australasian Plant Pathology**. 28:21-26, 1999.

KLUEPFEL, D.A.; McINNIS, T.M; ZEHR, E.I. Involvement of root-colonizing bacteria in peach orchard soils supressive of the nematode *Criconebella xenoplax*. *Phytopathology*, **Saint Paul**, v. 83, n.11, p.1240-1245, Nov. 1993.

KUBO, R. K.; OLIVEIRA, C. M. G.; MACHADO, C. Z. M.; INOMOTO, M. M. Nematóides fitoparasitos da bananeira. Instituto Biológico ESALQ/USP. SP. Disponível em: www.biologico.sp.gov.br/rifib/XIII%20RIFIB/kubo.pdf. Acesso: 16 de março de 2011.

LUCY, M.; REED, E.; GLICK, B. R. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 86, n. 1, p. 1-25, 2004.

MACIEL, S.L.; FERRAZ, L.C.C.B. Reprodução de *Meloidogyne incognita* raça 2 e de *Meloidogyne javanica* em oito espécies de plantas medicinais. **Scientia Agricola**, v.53, p.956-960, 1996.

MADIGAN, M. M., J. MARTINKO, PARKER, J. E. **Brock biology of microorganismos**. New York: Prentice Hall. 2003. 1.104 p.

MARIN, D. H.; SUTTON, T. B.; BARKER, K. R. Dissemination of bananas in Latin América and Caribbean and its relationship to the occurrence of *Radopholus similis*. **Plant Disease**, v. 82, n. 9, p.964-974, 1998.

MARIN, D.H.; SUTTON, T.B.; BARKER, K.R. Diseminación del banano em Latinoamérica y el Caribe y su relación con la presencia de *Radopholus similis*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**. N. 66. p. 62-75. 2002

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. & AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, p.17-67, 1998

MOREIRA, R. S. Banana Teoria e Prática de Cultivo. **Fundação Cargill**, 2º Edição, São Paulo, p.299, 1999.

MOREIRA, M. S. F.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. **Lavras: UFLA**, p.626, 2002.

NASCIMENTO, L. M. Produção orgânica de mudas de fruteiras inoculadas com fungos micorrízicos. **(Tese-Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, Cruz das Almas, 2010.

NELSON, S. C.; PLOETZ, R. C.; KEPLER, A. K. *Musa* species (banana and plantain). **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**, 2006.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 153, n. 375-380, 1954.

NUNES, M. N.; TAJARA, E. H. Delayed effects of organochlorine pesticides in man. **Journal of public health**, nº 4. V. 22, p. 372-383, 1998.

O'BANNON, J. H. Worldwide dissemination of *Radopholus similis* and its importance in crop production. **Journal of Nematology**, v. 9, n. 1, p.16-25, 1977.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA S.; BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. Embrapa Agrobiologia, Ed. Seropédica, p. 1-40, 2003.

OLIVEIRA, A. S.; CAMPOS, V. S. O.; SILVA, J. R. C.; OLIVEIRA, M. S. Efeito de Bactérias Endofíticas sobre *Meloidogyne javanica* e Métodos de Inoculação em Tomateiro. **Nematologia Brasileira**. SP, 2008.

PAIXÃO, L. B. V. S. Actinomicetos Promotores de crescimento e agentes de biocontrole do nematóide cavernícola da bananeira. **Dissertação de Mestrado**, UFRB, 2008.

PEIXOTO, C. C. Rizobactérias no biocontrole do nematoide cavernícola da bananeira. **Dissertação de Mestrado**, UFRB, 2011.

PEREIRA, A. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; PELISSARI, A.; MACEDA, A. Nematóides associados à cultura da bananeira na região norte do Paraná: resultados parciais. **Summa Phytopathologica**, v. 32, supl., p. 17, 2006.

PINOCHET, J. e ROWE, P. Progress in breeding for resistance to *Radopholus similis* on bananas. **Nematropica**, v. 9, p. 40-43, 1979.

REIS, V. M. Interações entre plantas e microrganismos. **Embrapa Agrobiologia**, ed. Seropédica, p. 1-24, 2005.

RITZINGER, C. H. S. P.; BORGES, A. L.; LEDO, C. A. S; CALDAS, R. C. Fitonematóides associados ao cultivo de bananeira pacovan irrigada nos municípios de Petrolina, PE e Juazeiro, BA. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 263, 2003. Resumos.

RODRIGUES, A. S.; GREGORCZUK, A. L.; FOLADORI, G.; DONHA, A. G.; FERRARO, H. T.; SOUZA, L. C. P. As condicionantes da sustentabilidade agrícola em uma Área de Proteção Ambiental. **A APA de Guaraqueçaba**. Curitiba: IAPAR, p. 203, 2005.

ROMEIRO, R. S. Induced resistance in planta to pathogens in Brazil – a research overview. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 254-256, 2001.

ROMEIRO, R. S. Controle biológico de enfermidades de plantas: fundamentos/ Visçosa: Ed.UFV, 269p. 2007

SANTOS, C. C. C.; RODRIGUES, P. H. V. Variação somaclonal de mudas micropropagadas de bananeira cultivar Pacovan. Bragantina: **Revista de ciências agronômicas**, v. 63. n. 2, p. 201-205, 2004.

SARAH, J. L., PINOCHET, J; STANTON, J. The burrowing nematode of bananas, *Radopholus similis* Cobb, 1913. **Musa Pest Fact Sheet**, n. 1, 1996. Disponível em: <<http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2011.

SCHAAD, N. W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, 2. ed., St. Paul. **American Phytopathological Society**, p. 164, 1988.

SIKORA, R. A.; SCHUSTER, R. P. Novel approaches to nematode IPM. In: FRISON, E. A., GOLD, C. S., KARAMURA, E. B.; SIKORA, R. A. (Eds.). Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa. **Proceedings Nelspruit: Inibap**, 1998. p. 129-136. Disponível em: <<http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf>. Acesso em: 16 de jan. de 2011.

SILVA, G. S. Manejo de nematóides na região meio-norte. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 234-235, 2003.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S. Isolamento e seleção massal de rizobactérias indutoras de resistência sistêmica à Mancha- bacteriana-pequena do tomateiro. **Revista Ceres**, v.51, n.295, p.345-354, 2004

SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A.; CORDEIRO, Z.J.M. Variedades. In: **O cultivo da bananeira**. (Eds. A. L. Borges & L. S. Souza). Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 279, 2004.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, 49 p. 2008.

SOUSA, C.S.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M.S. Estreptomicetos no controle da meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1759-1766, 2006.

SOUZA, J. T.; MAXIMINIANO, C.; CAMPOS, V. P. Nematóides associados à plantas frutíferas em alguns estados brasileiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 353-357, 1999.

SPEIJER, P. R., KAJUMBA, C. TUSHMEREIRWE, W. K. Dissemination and adaption of a banana clean planting material technology in Uganda. **Infomusa, Montpellier**, v. 8, n.2, p 11-

13, 1999. Disponível em: <<http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf>>. Acesso em: 16 de jan. de 2011.

STARR, J. L.; BRIDGES, J.; COOK, R. Resistance to plant parasitic nematodes: history, current use and future potential. In: STAR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (Eds). **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International p. 1-22, 2002.

STIRLING, G.R. Biological control of plant parasitic nematodes: progress problems, and prospects. **CAB International**, Wallingford, Oxon, UK, 1991.

STOLF, E. C. Efeito de re-inoculações de fungos endofíticos sobre o controle do nematóide cavernícola da bananeira (*Radopholus Similis*). **Tese de monografia**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

STOVER, R. H. Banana, plantain and abaca diseases. **Kew: Commonwealth Mycological Institute**, p. 316, 1972.

SUNDARARAJU, P.; SHANTHI, A.; SATHIAMOORTHY, S. Status report on Musa nematode problems and their management in India. In: DELA CRUZ JR., F. S.; VAN DEN BERGH, I.; DE WAELE, D.; HAUTEA, M. D.; MOLINA, A. B. (Eds.). Towards management of Musa nematode in Asia and the Pacific. **Country reports Los Baños: Inibap**, 2003. p. 21-46. Disponível em: <<http://www.bioversityinternational.org/publications/Pdf>>. Acesso em: 15 de jan. de 2011.

TIHOHOD, D. Nematologia Agrícola Aplicada, 2. ed. Jaboticabal: Funep, p. 473, 2000.

THORNE, G. **Principles of Nematology**. New York: McGraw-Hill. P.553, 1961.

TUSUN, S.; KLOEPPER, J. W. Potential applications of Plant Growth-promoting Rhizobacteria to Induced Systemic Disease Resistance, pp. 115-127. In: REUVENI, R. E. (Ed). **Novel approaches to integrated pest management**, Boca Raton: Lewis Publishers, 1995.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P.; PIETERSE, C. M. J.; DUFFY, B.; ROSENBERGER, U.; DEFAGO, G. Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens. **Bulletin OILB SROP**, v. 21, p. 453-483,1998.

VIEIRA, L.M. Banana. **EPAGRI/CEPA**. 2009. Disponível em: www.cepa.epagri.sc.gov.br Acesso: 05 de janeiro de 2011.

WHIPPS, J. M. Microbial interaction and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

ZACHEO, G. Introduction. In: KHAN, M.W. (ed). Nematode Interactions. **Chapman & Hall**, London, p.1-25, 1993.

ZAGO, V. C. P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. *Pseudonomas spp. Fluorescentes* – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. **Embrapa Agrobiologia**, ed. Seropédica, p. 1-32, 2000.

ZEM, A. C.; RODRIGUES, J. A. S; ALVES, E. J.; MONTEIRO, A. R.; LORDELLO, L. G. E. Controle de nematóides em bananeira 'Prata' através de nematicidas sistêmicos granulados. **Sociedade Brasileira de Nematologia**. V. 5, p. 203-212, 1981.

ZUCKERMAN, B. M. Hypotheses and possibilities of intervention in nematode chemoresponses. **Journal of Nematology**, v. 15, p. 173-183, 1983.