10º FEPEG FÓRUM ENSINO • PESQUISA EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA
Realização: Unimontes, Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Ensino Superior, Minas Gerais
Apoio: FAPEMIG, FADENOR
ISSN 1806-549 X

Autor(es): MARCELLY THAÍS DE CASTRO, RENATO MARTINS ALVES, JOÃO PAULO DE SOUZA SILVA, ADELICA APARECIDA XAVIER, CLÁUDIA MARIA DA SILVA, REGINA CÁSSIA FERREIRA RIBEIRO, GLEIKA LARISSE OLIVEIRA DORASIO DE SOUZA

CONTROLE BIOLÓGICO DE *Meloidogyne javanica* EM MUDAS DE BANANEIRA PRATA-ANÃ POR BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS.

Introdução

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são conhecidos por infectar diversas culturas, reduzir a produtividade e consequentemente causar grandes prejuízos aos produtores, quando não manejados corretamente. Nos bananais, de todos os estados brasileiros, o gênero *Meloidogyne* ocorre com frequência, sendo relatadas as espécies *M. ingonita*, *M. javanica* (ZEM, 1984).

Os nematoides são disseminados através da comercialização indiscriminada de mudas infectadas entre os bananicultores. Assim, uma forma de minimizar os danos causados por esse patógeno é o uso de material propagativo sadio, por meio de mudas micropropagadas, que apresentam grande qualidade sanitária (LOPES, 2011).

O controle destes fitonematoides geralmente é realizado com a utilização de nematicidas carbamatos e organofosforados. Este método tem apresentado pouca eficácia devido a problemas de uso excessivo, o que resulta na seleção de nematoides resistentes aos produtos aplicados, biodegradação dos princípios ativos no solo. Além disso, podem ocorrer contaminações de pessoas durante a aplicação e ingestão de resíduos nos frutos e poluição do meio ambiente, principalmente da água do lençol freático pela percolação dos ingredientes ativos tóxicos com a chuva ou irrigação, entre outros. Desta forma tem se pesquisado outras medidas manejo. A utilização do controle biológico pode seguramente reduzir a população de pragas e doenças e favorecer a longevidade da cultura. Porém, a eficiência deste tratamento está relacionada, entre outros fatores, principalmente ao nível populacional da praga, estado nutricional e idade do cultivo. Para viabilizar a utilização desses microrganismos no controle biológico, também são necessários estudos de multiplicação e distribuição desses microrganismos para sua disponibilização ao agricultor e, principalmente, obtenção de registros para comercialização (RITZINGER e FANCELLI, 2006). Assim o presente trabalho teve por objetivo avaliar 20 isolados de bactérias endofítiicas no controle de *M. javanica* em bananeira 'Prata-Anã.

Material e métodos

A. Origem das bactérias

No ensaio utilizaram-se 20 isolados de bactérias endofiticas isolados de bananeira "Prata- Anã" de fazendas do Norte de Minas e Sudoeste da Bahia.

B. Montagem do ensaio

O experimento foi realizado em casa de vegetação, usando o delineamento inteiramente casualizado, com 8 repetições + 1 testemunha contendo apenas o nematoide.

Mudas micropropagadas de bananeira 'Prata-Anã' produzidas no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Ciências Agrárias completamente enraizadas, com três folhas lançadas e no mínimo três centímetros de altura foram transferidas para bandejas contendo Bioplant® onde permaneceram por 30 dias em viveiro com irrigação controlada e sombrite. Durante a aclimatização, as mudas foram tratadas via rega do substrato dos tubetes com 2ml de suspensão bacteriana calibrada para OD_{540}=1,0 aos 15 e 30 dias após o plantio. Após a fase de aclimatização (40 dias aproximadamente) foram transplantadas para vasos plásticos de 3 L contendo solo arenoso previamente autoclavado. Após 7 dias foi realizada a inoculação de 3 mL contendo 2000 ovos em três orifícios ao redor da muda.

C.Avaliação do experimento

Aos 90 dias após a inoculação do nematoide, avaliaram as características agronômicas: altura das plantas, o diâmetro do pseudocaule e o número de folhas. Em seguida, a parte aérea foi cortada, acondicionada em sacos de papel e o sistema radicular removido cuidadosamente do solo e levados ao laboratório de Fitopatologia. No laboratório realizou-se a lavagem das raízes em água parada contida em um balde de 2 litros. A seguir, massas de ovos dos nematoides nos sistemas radiculares foram coradas com floxina B. Após a coloração, as raízes foram deixadas sobre duas folhas de jornal por 10 minutos para secagem. Posteriormente realizou-se a avaliação do peso do sistema radicular das plantas, seguida da contagem de massas de ovos e de galhas por sistema radicular. Para a quantificação do número de ovos por sistema radicular, as raízes foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2 cm de comprimento para que os ovos fossem extraídos de acordo com a técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Boneti e Ferraz (1981). Em microscópio de objetiva invertida realizou-se a contagem dos ovos de *M. javanica* por sistema radicular. O número de

Apoio financeiro: FAPEMIG, CAPES.

ISSN 1806-549 X

juvenis de segundo estádio por 100 cm³ de solo foi avaliado em câmara de Peters após extração de juvenis por meio da técnica de Jenkins (1964). Os tratos culturais foram aqueles recomendados para a cultura. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott (1974) ($P<0,05$). O fator de reprodução (FR) foi obtido por meio da fórmula FR=Pf/Pi, onde Pf é o número de ovos aos 90 dias e Pi o número de ovos utilizado na infestação do solo,

Resultados e discussão

Para o número de galhas, com exceção do isolado B-38 *Bacillus* sp.,, todos os demais reduziram tal variável. A máxima redução, 76%, foi proporcionada por EB-26 *Bacillus methylotrophicus* e a menor redução, 18%, promovida por EB-24 *Bacillus thuringiensis*

Para o número massas de ovos todos os isolados utilizados no trabalho promoveram redução significativa em relação à testemunha, sendo que a máxima redução, 84%, foi proporcionada por EB-26 *Bacillus methylotrophicus*. Comportamento semelhante ao obtido para o número de massas de ovos foi encontrado na variável avaliada número de ovos, onde todos os isolados apresentaram redução no número de ovos com atenuação maxima de 85,6%. O Fator de reprodução apresentou reduções de 86 a 45% em relação à testemunha. Destaca-se o isolado EB-26 *Bacillus methylotrophicus* que apresentou a maior redução. (Tabela 1).

Uma das vantagens da utilização de bactérias endofíticas como agentes de controle biológico de patógenos é sua competência natural para colonizar a rizosfera e invadir os tecidos internos das plantas, uma vez que essa característica é essencial para o sucesso dos tratamentos de doenças que afetam partes subterrâneas das plantas (Aravind et al. 2008). Resultados semelhantes têm sido observados em outros trabalhos. Fabri et al (2007) trabalhando com microbiolização de sementes de tomate com *Escherichia coli e Citrobacter freundii* observaram redução de 80% no número de galhas (*Escherichia coli)*e 83% no número de ovos (*Citrobacter freundii)* de *M. javanica*. Júnior *et al*. (2010) trabalharam com Isolados de *Bacillus pumilus* combinado com *Pseudomonas synxantha* em arroz , diminuem reprodução de *M. graminicola.* Assim como os isolados utilizados reduziram de 86 a 46% a população de *M. javanica.*

Isolado de *Bacillus megaterium* testado em *M. graminicola* na cultura do arroz reduziu em 40% a formação de galhas, valor bem inferior ao encontrado no trabalho que foi de 76% de redução na formação das galhas.(PADGHAM e SIKORA, 2006)

Conclusão

Baseado na redução das variáveis nematológicas, os isolados que possuem alto potencial de biocontrole são EB- 04-*Bacillus subtillis,* EB 15- *Bacillus pumilus,* EB 23-*Klebsiella pneumoniae,* EB 26-*Bacillus methylotrophicus,* EB 28-*Paenibacillus sp,* EB 40- *Bacillus subtillis* e EB 53-*Lysinibacillus sp.*

Agradecimentos

À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado, à FAPEMIG pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC) e da bolsa de incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento tecnológico (BIPDT).

Referências bibliográficas

ARAVIND, R.; KUMAR, A.; EAPEN, S.J. & RAMANA, K.V. Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (Piper nigrum L.) genotype: isolation, identification and evaluation against Phytophthora capsici. Letters in Applied Microbiology, 48: 58-64.2008.

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

FABRI, C.F.S. 2006. Indução de resistência ao nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) em tomateiro por rizobactérias. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 63 p. 2006

ISSN 1806-549 X

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, v. 45 São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCAR, p. 255-258. 2000

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

LOPES, P. S.. Aplicação de rizobactérias em explantes e plântulas de bananeira 'Prata-Anã' no controle de Meloidogyne javanica e no desenvolvimento de mudas. Dissertação (mestrado em produção vegetal) Unimontes. 123 p. 2011

PADGHAM, Jon; SIKORA, Richard. The potential for *Meloidogyne graminicola* biological control in rice under oxic and anoxic soil environments. IOBC WPRS BULLETIN, v. 29, n. 2, p. 111, 2006.

RITZINGER, C. H. S. P., and MARILENE FANCELLI. "Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira." *Revista Brasileira de Fruticultura* , p. 331-338. 2006

SCOTT, A. J., and M. KNOTT. "A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance". Biometrics.p. 507-512. 1974

SOUZA JÚNIOR, I. T., MOURA, A. B., SHAFER, J. T., CORRÊA, B. O., & GOMES, C. B. Biocontrole da queima das bainhas e do nematoide das galhas e promoção de crescimento de plantas de arroz por rizobactérias. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 45, n. 11, p. 1259-1267, 2010.

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

Tabela 1. Médias das variáveis nematológicas, número de galhas, massas de ovos, ovos e fator de reprodução (FR) por sistema radicular de mudas de bananeira 'Prata-Anã'inoculdas com Bactérias endofíticas.

ISOLADOS	GALHAS	MASSAS	OVOS	FR
EB-04 *Bacillus subtilis*	103,00 b	21,38 a	14471,50 c	7,08 c
EB-15 *Bacillus pumilus*	87,25 a	22,88 a	13546,25 c	6,77 c
EB-23 *Klebsiella pneumonia*	106,50 b	33,13 b	11067,75 b	5,54 b
EB-24 *Bacillus thuringiensis*	248,38 f	74,50 e	24827,13 f	12,41 f
EB-25 *Bacillus cereus*	206,00 e	37,63 c	8551,50 a	4,28 a
EB-26 *Bacillus methylotrophicus*	74,38 a	19,75 a	7873,50 a	3,94 a
EB-28 *Paenibacillus* sp.	131,75 c	22,88 a	15438,25 d	7,72 d
EB-30 *Bacillus axarquienses*	163,13 d	37,00 c	19420,88 e	9,71 e
EB-34 *Bacillus pumilus*	158,00 d	26,75 a	12904,63 c	6,45 c
EB-37 *Bacillus* sp.	162,75 d	30,13 b	9674,13 a	4,84 a
EB-38 *Bacillus* sp.	324,50 g	93,25 f	29693,13 g	14,84 g
EB-40 *Bacillus* sp.	159,63 d	26,38 a	14052,25 c	7,03 c
EB-44 *Bacillus amyloliquefaciens*	97,88 b	34,13 b	14471,38 c	7,24 c
EB-45 *Lysinibacillus sp.*	141,25 c	36,50 c	11563,63 b	5,78 b
EB-46 *Bacillus pumilus*	240,00 f	55,13 d	25150,38 f	12,58 f
EB-47 *Bacillus* sp.	240,25 f	52,63 d	17982,75 d	8,99 d
EB-49 *Bacillus licheniformis*	134,75 c	42,88 c	16095,50 d	8,05 d

ISSN 1806-549 X

EB-50 *Bacillus* sp.	159,75 d	30,00 b	11286,88 b	5,65 b
EB-51 *Bacillus pumilus*	154,13 d	38,13 c	16583,75 d	8,29 d
EB-53 *Lysinibacillus sp.*	108,13 b	41,13 c	13358,75 c	6,68 c
Testemunha	303,88 g	119,38g	54713,50 h	27,36 h
CV (%)	15,38	19,91	15,30	15,29

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