

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 17 (3)

Mai/Jun 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/17320241905>

Article link: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1905>



Controle biológico de nematoides da bananeira por bactérias produtoras de auxina

Biological control of banana nematodes by auxin-producing bacteria

Corresponding author

Humberto Franco Shiomi

Universidade Federal de Mato Grosso - Campus de Sinop

hfshiomi@yahoo.com.br

Valéria de Oliveira Faleiro

Embrapa Agrossilvipastoril

Douglas Rafael Dreher

Engenheiro Agrônomo

Martha Viviana Torres Cely

Universidade Federal de Mato Grosso - Campus de Sinop

Resumo. Nesse trabalho avaliou-se o efeito de isolados de bactérias produtoras de auxina selecionadas quanto ao antagonismo a *Mycosphaerella musicola*, no biocontrole de *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp. e *Radopholus* sp. em mudas de bananeira. Os tratamentos consistiram da aplicação de 25 mL de uma suspensão bacteriana (10^9 ufc. mL⁻¹) de cinco isolados bacterianos (BB-6, BS-12, BB-9, BS-8 e BS-17); um fungo micorrízico (FM) (100 esporos. g⁻¹ de solo); a sua combinação com os isolados bacterianos e mais 2 produtos biológicos comerciais, totalizando 14 tratamentos em 5 repetições. Após 60 dias, nas raízes, não se observou eficácia no controle dos nematoides por qualquer agente de biocontrole testado. No solo, o tratamento que mais se destacou foi o isolado BS-17, com uma redução significativa nas populações de *Pratylenchus* sp. (78,3%) e *Helicotylenchus* sp. (87,9%). Da mesma forma, observou-se que os tratamentos FM+BS-12, FM+BS-8 e FM+BS-17 foram eficazes em reduzir as populações de *Pratylenchus* sp., com níveis de controle variando entre 57,6% e 64,6%. Observou-se, também, que os isolados BS-17 e FM+BS-17 se mostraram eficazes em reduzir a população total de fitonematoides no solo, quando comparados à testemunha, com níveis de controle variando entre 66,8% e 81,2%. Dos microrganismos testados, o isolado BS-17 se destacou dos demais quando utilizado isoladamente. Quando utilizados em conjunto com o fungo micorrízico, os isolados BS-17, BS-12, BB-6 e BS-8 foram os mais promissores no biocontrole dos fitonematoides, necessitando de estudos adicionais para a avaliação do seu real potencial de uso.

Palavras-chave: biocontrole, antagonismo, *Yersinia bercovieri*

Abstract: In this work was evaluated the effect of strains of auxin-producing bacteria selected toward the antagonism to *Mycosphaerella musicola* on the biocontrol of *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp. and *Radopholus* sp. in banana seedlings. The treatments consisted of the application of 25 mL of a bacterial suspension (10^9 cfu. mL⁻¹) of five bacterial strains (BB-6, BS-12, BB-9, BS-8 and BS-17); a mycorrhizal fungus (FM) (100 spores. g⁻¹ of soil); its combination with bacterial strains and 2 more commercial biological products, totaling 14 treatments in 5 replications. After 60 days, in roots, no efficacy was observed in controlling nematodes by any biocontrol agent tested. In soil, the highlighted treatment on biocontrol of nematodes was the BS-17 strain, with a significant reduction in *Pratylenchus* sp. populations (78.3%) and *Helicotylenchus* sp. (87.9%). Likewise, it was observed that the treatments FM+BS-12, FM+BS-8 and FM+BS-17 were effective in reducing *Pratylenchus* sp. populations, with control levels varying between 57.6% and 64.6%. It was also observed that BS-17 and FM+BS-17 strains were effective in reducing the total population of phytonematodes in the soil, when compared to the control, with control levels varying between 66.8% and 81.2%. Of the microorganisms tested, the BS-17 strain highlighted from the others when used alone. When used together with the mycorrhizal fungus, BS-17, BS-12, BB-6 and BS-8 strains were the most promising in the biocontrol of phytonematodes, requiring additional studies to evaluate their real potential for use.

Keywords: biocontrol, antagonism, *Yersinia bercovieri*

Introdução

Na cultura da banana, vários agentes fitopatogênicos de diferentes etiologias são responsáveis pela redução da produção de frutos. Dentre eles, os nematoides, que se alimentam dos tecidos radiculares das plantas, reduzindo a eficiência das raízes na absorção de água e nutrientes e afetando o seu desenvolvimento.

Nessa cultura são relatadas mais de 151 espécies de nematoides, divididas em 51 gêneros em todo o mundo (KHAN; HASAN, 2010). No Brasil, as principais espécies que acometem a cultura da banana são: *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, *Pratylenchus coffeae*, *Radopholus similis* e *Helicotylenchus multincinctus* (KUBO et al., 2013), os quais são manejados de diferentes formas, incluindo os métodos químicos, que apresentam alto custo e níveis de controle considerados não satisfatórios (SEONG et al., 2021), aumentando a necessidade de se disponibilizar formas alternativas de controle eficientes, baratas e pouco impactantes ao ambiente, como é o caso do uso do controle biológico.

Vários substratos podem servir como importantes fontes para a prospecção de microrganismos com potencial de uso no biocontrole de fitopatógenos, como os biofertilizantes, produtos resultantes da digestão aeróbica ou anaeróbica de compostos orgânicos de origem vegetal e animal (BETTIOL, 2003; SILVA et al., 2007). Eles apresentam uma elevada e complexa comunidade microbiana, contendo rizobactérias promotoras de crescimento, fungos micorrízicos arbusculares e outros microrganismos benéficos, que auxiliam no desenvolvimento vegetal, pelo aporte de nutrientes, produção de hormônios de crescimento e na supressão de agentes fitopatogênicos. Os mecanismos envolvidos no biocontrole incluem a produção de sideróforos, amônia, compostos cianogênicos, quitinases e antibióticos, além da ação antagonista, competição por espaço e nutrientes e indução de resistência sistêmica na planta hospedeira (SILVA et al., 2019; KOUR et al., 2020; MAHMUD et al., 2021; RAIMI et al., 2021).

A comunidade microbiana e a composição química presente em um biofertilizante pode ser bastante variável em função de uma série de fatores, tais como o método de preparo, tempo de decomposição, temperatura, pH do composto e composição dos materiais orgânicos utilizados no seu preparo (MARROCOS et al., 2012; MEDEIROS; LOPES, 2006),

Assim, tendo em vista a grande importância dos nematoides como importantes parasitas de plantas de interesse econômico no meio agrícola e a necessidade de busca por agentes microbianos eficientes no biocontrole desses fitoparasitas, esse trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de isolados bacterianos produtores de ácido indolacético, provenientes de biofertilizantes e selecionados quanto à antibiose para serem

testados no biocontrole dos principais fitonematoídeos da cultura da banana, em testes em vasos contendo mudas de bananeiras micropropagadas.

Material e métodos

Seleção massal de bactérias antagonistas

Para a triagem das melhores linhagens com ação antagonista a microrganismos, foi realizada uma seleção massal a partir de 32 isolados bacterianos produtores de auxina, provenientes de biofertilizantes à base de esterco suíno e bovino, por meio de testes de antagonismo *in vitro*, no qual foram colocados quatro isolados bacterianos distintos por placa contendo meio BDA, dispostos na forma de estrias, equidistantes e nas extremidades das placas. Esses isolados foram multiplicados em meio de cultura nutriente-ágar (NA) por 48 horas e transferidos para placas de Petri contendo o meio de cultura. No centro, foi colocado um disco de 0,5 cm de diâmetro, contendo a cultura do fungo *Mycosphaerella musicola*, agente causal da sigatoka amarela na bananeira, o qual foi isolado a partir de folhas de bananeira com lesões características da doença, pela exposição de fragmentos de folhas lesionadas a soluções desinfestantes, seguido de plaqueamento em BDA por 4 dias, transferência do micélio do fungo para meio BDA e incubação por 10 dias a 28°C. Uma placa contendo um disco de 0,5 cm contendo micélio do patógeno, sem a presença de qualquer isolado bacteriano serviu como tratamento controle.

O período de tempo necessário para que o micélio do patógeno no tratamento controle colonizasse toda a superfície da placa, serviu de parâmetro para indicar o momento de avaliação da inibição, realizada por meio de análise visual e em apenas uma repetição, sendo selecionados aqueles que apresentaram algum nível de inibição do crescimento do patógeno.

Avaliação do antagonismo em testes "in vitro"

Foram selecionados cinco isolados bacterianos com alguma ação antagonista a *M. musicola*, os quais foram utilizados para avaliação da ação antagonista ao mesmo fitopatógeno em testes de antagonismo em culturas pareadas. Para isso, os isolados foram transferidos para o meio de cultura nutriente-ágar (NA), sendo incubados por um período de 48 horas a 28°C. Após esse período, foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA na forma de uma estria em uma das extremidades da placa. Na outra extremidade equidistante, foi colocado um disco de 5,0 mm de diâmetro contendo meio de cultura colonizado pelo fungo *M. musicola*, seguido de incubação a 25 °C e 12 horas de luz. Como testemunha, apenas a colocação de um disco contendo o patógeno em uma das extremidades da placa. A determinação do crescimento micelial foi feita pela medição do raio de inibição, no momento em que o patógeno

presente no tratamento testemunha atingiu uma das extremidades da placa. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, no qual cada isolado bacteriano constituiu em um tratamento, totalizando 6 tratamentos e 3 repetições, onde cada placa de Petri constituiu uma repetição. Para a comparação das médias, teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Controle biológico de fitonematoides em testes em casa de vegetação

Os ensaios foram realizados em vasos contendo solo naturalmente infestado com nematoides, proveniente de área de cultivo comercial de bananas localizada no município de Sinop-MT. Para a avaliação da eficácia dos isolados bacterianos no controle de fitonematoides, foi feita uma avaliação da população inicial dos nematoides na época de instalação dos ensaios em casa-de-vegetação e, após 60 dias, a avaliação da população final dos fitoparasitas,

Para obtenção da população inicial de nematoides, com o auxílio de um trado, foram feitas amostragens contendo solos e raízes de bananeira, numa profundidade de 0-20cm, na zona de projeção da copa, de forma casualizada e totalizando 4 amostras simples de 500g cada, as quais foram misturadas e homogeneizadas, para formar uma amostra composta de 400g. Após, as amostras foram ensacadas e enviadas ao laboratório para a realização da extração, identificação e quantificação das espécies de nematoides. Para a extração dos nematoides presentes no solo e nas raízes foram utilizados os procedimentos descritos por Jenkins (1964) e Coolen e D'Herde (1972), respectivamente. A quantificação de nematoides foi realizada utilizando-se uma câmara de contagem de nematoides (lâmina de Peters) em microscópio ótico.

Culturas de bactérias selecionadas quanto à ação antagônica a fitopatógenos, foram cultivadas em meio NA (nutriente ágar) por 48 h a 25 °C e suas respectivas suspensões de células bacterianas preparadas e padronizadas com o ajuste de turbidez pela escala de Mc Farland, estimando-se a concentração de bactérias em 10^9 ufc mL⁻¹ (MANTOVANELLO; MELO, 1994). As mudas de bananeiras foram inoculadas, por meio da aplicação de 25 mL de suspensão bacteriana sobre o solo e ao redor das plantas.

O inóculo do fungo micorrízico foi obtido a partir da coleção de culturas da UFMT Campus Sinop. Uma amostra de solo e raízes contendo o agente de biocontrole foi retirado, na forma de 3 amostras de 30 gramas e realizada a sua extração, de acordo com a metodologia de Gerdemann e Nicholson (1963). Após o processo de extração, com o auxílio de lupa, foi realizada a contagem de esporos, chegando a uma média de 100 esporos por grama de solo.

Para a inoculação do fungo no substrato, foram utilizados dois gramas de inóculo para cada

25 cm³, totalizando 200 esporos. Após, realizou-se a homogeneização do solo com o substrato, seguido de sua manutenção em casa de vegetação por 30 dias sob irrigação diária, para proporcionar a colonização das raízes pelo fungo micorrízico, até o momento de transplante das mudas para os vasos.

O ensaio foi conduzido em vasos plásticos de oito litros de capacidade, contendo cinco litros de solo peneirado e corrigido com seis gramas de calcário, de acordo com análise de solo. Sobre o solo, foi colocado um litro de solo naturalmente infestado de nematoides, proveniente da área de cultivo comercial de bananeiras.

Foram utilizadas mudas de bananeira cv. Williams, AAA, grupo Cavendish, provenientes de cultura de meristema, com 70 dias de idade de explante e cultivadas em tubetes plásticos de 293 cm³, preenchidos com substrato de plantio esterilizado por um período de 90 dias. Em seguida, foram transplantadas para os vasos e inoculados os agentes de biocontrole e os dois produtos biológicos comerciais, na dosagem recomendada pelo fabricante.

Após a aplicação dos agentes de biocontrole, as mudas de bananeira foram transferidas para casa de vegetação, onde permaneceram por 60 dias sob condições controladas (UR = 80%, T °C = 30,0 e irrigação diária) até o momento da avaliação do experimento, onde foi avaliada a população final de nematoides e determinada a produção de biomassa vegetal, por meio da avaliação da altura das plantas (HP); peso fresco da parte aérea (PFA) e peso seco das raízes (PSR) e diâmetro do caule (DC). O material foi seco em estufa a 65°C por 72 h até atingir peso constante.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, onde os tratamentos consistiram de: um agente de biocontrole selecionado quanto ao antagonismo "in vitro" (BB-6, BS-12, BB-9, BS-8 e BS-17); um fungo micorrízico (FM) e a sua combinação com os isolados bacterianos (BB-6+FM, BS-12+FM, BB-9+FM, BS-8+FM e BS-17+FM); dois produtos comerciais biológicos para controle de nematoides: Nema 1 (à base de *Trichoderma* sp., *Paecilomyces lilacinus*, *Arthrobothrys* sp. *Pochonyia* sp. e *Bacillus subtilis*) e Nema 2 (à base de *Trichoderma viride*, *T. asperellum* e *T. harzianum*) aplicados na dose comercial recomendada pelo fabricante, totalizando 14 tratamentos em cinco repetições, onde cada vaso contendo uma muda de bananeira representou uma repetição. Como testemunha, plantas tratadas com água destilada esterilizada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste F e teste de Tukey (5%), pelo programa estatístico ESTAT.

Após a avaliação dos ensaios em vasos, foram retiradas duas pequenas amostras das raízes finas e colocadas em grades pequenas, para se verificar a ocorrência da associação micorrízica entre o fungo e as raízes das mudas de bananeiras,

pelo processo de coloração da raiz. Foi adicionado 10% KOH em cada recipiente, assegurando que a amostra estivesse completamente coberta, e esterilizadas em a autoclave por 15 minutos sem pressão, para o aquecimento do KOH e ação sobre as raízes. Após, foi feito o enxágue em água por três vezes e adicionado HCl a 5% por cerca de 3 minutos e adicionando a tinta azul trypan por três minutos, seguido de retirada do excesso do corante e adição de fixador para manutenção da durabilidade das raízes por tempo prolongado.

Resultados e discussão

Ao se analisar a ação antagônica dos isolados bacterianos nos testes em culturas pareadas, observou-se que todos eles se mostraram eficazes em inibir o crescimento micelial

do fitopatógeno, quando comparados à testemunha, com níveis de controle variando entre 21,1% e 24,3% e com destaque para o isolado BS-17, com 44,4% de controle relativo (Tabela 1).

Em razão de se tratar de um teste específico para a observação de ação antagônica frente a um agente microbiano, a expressão do controle pode estar relacionada a diferentes mecanismos, tais como a produção de compostos fungitóxicos e quitinases (MARTINEZ et al., 2002; MOHAMED et al., 2003; MUHAMMAD; AMUSA, 2003; SHIOMI et al., 2006), proteases (JANKIEWICZ et al., 2012; JANKIEWICZ et al., 2016), competição e antibiose (SINGH; FAULL, 1988; CHEN et al., 1996) e/ou a produção de sideróforos (CARNIEL, 2001), entre outros.

Tabela 1. Inibição do crescimento micelial de *Mycosphaerella musicola* por bactérias produtoras de AIA, em testes de antagonismo “in vitro”

Tratamento	R.C ¹	I.R ²
Testemunha	6,17 a*	00,0
BS-12	4,67 b	24,3
BB-3	5,00 b	19,0
BB-6	5,17 b	16,2
BS-8	4,87 b	21,1
BS-17	3,43 c	44,4
CV (%)	6,8	-

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

¹ Raio da colônia fúngica (cm)

² I.R.(%) = $(RP - RT)/RP \times 100$, sendo:

IR = Inibição relativa (%)

RP = raio da colônia no tratamento controle com o patógeno

RT = raio da colônia do patógeno no tratamento com o isolado bacteriano antagônico

Dos isolados testados neste ensaio, apenas o isolado BB-6 foi identificado (*Yersinia bercovieri*) por Bulhões et al. (2019), que observaram a sua atividade antagônica sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, em testes de antagonismo “in vitro”, com uma inibição do crescimento micelial do fitopatógeno na ordem de 45,8%, assim como em frutos de maracujá (*Passiflora edulis*), na ordem de 29,9%, corroborando com os resultados apresentados no presente ensaio. Da mesma forma Valiati et al. (2012) observaram a ação antagônica de BB-6 sobre *Aspergillus* sp. em testes de antagonismo em condições de laboratório, na ordem de 24,6%.

Embora se saiba que *Y. bercovieri* pertença a um grupo de bactérias oportunistas, que afetam o trato gastrointestinal e causem diarreias e, até mesmo, septicemia em humanos e animais domésticos (FALCÃO, 2014; LE GUERN et al., 2016), não foram encontrados outros relatos da sua ação no biocontrole de fitopatógenos. Há, apenas, relatos da produção de sideróforos por essa bactéria (CARNIEL, 2001), o que poderia explicar a sua ação antagônica a fungos fitopatogênicos.

Nos testes em vasos contendo mudas de bananeiras, ao se avaliar a eficácia dos agentes testados no biocontrole da população de fitonematoides nas raízes, não se observou

diferença significativa para qualquer um dos isolados bacterianos testados, mesmo quando associados com o fungo micorrízico (Tabela 2).

Embora sejam encontrados relatos bem sucedidos relacionados à performance dos fungos micorrízicos como agentes de biocontrole sobre nematoides, também são encontrados exemplos de baixa eficiência para esse fim, o que tem limitado a sua utilização, onde a expressão da capacidade de biocontrole se mostra dependente de vários fatores favoráveis ligados ao fungo micorrízico, ao patógeno, à planta hospedeira e às condições ambientais (VOS et al., 2012), o que poderia estar ocorrendo no presente trabalho.

No controle de população de nematoides no solo, o tratamento que mais se destacou foi aquele composto pelo isolado BS-17, com uma redução significativa nas populações de *Pratylenchus* sp. (78,3%) e *Helicotylenchus* sp. (87,9%). Embora tenha apresentado níveis elevados de biocontrole sobre *Radopholus* sp. (79,0%) não houve diferença significativa quando comparado à testemunha. Da mesma forma, observou-se que os tratamentos FM+BS-12, FM+BS-8 e FM+BS-17 foram eficazes em reduzir as populações de *Pratylenchus* sp., com níveis de controle variando entre 57,6% e 64,6%. Observou-se também, que os tratamentos com o isolado BS-17 e FM+BS-17 também se mostraram

eficazes em reduzir a população total dos fitonematoides no solo, quando comparados à testemunha, com níveis de controle variando entre 66,8% e 81,2%. Os demais tratamentos não diferiram significativamente da testemunha (Tabela 3).

Dos microrganismos que se destacaram na

redução das populações de fitonematoides no solo, pode se inferir que um dos mecanismos envolvidos no biocontrole é a ação antagônica, uma vez que todos os isolados bacterianos testados se destacaram em testes de antagonismo “in vitro”, no qual o isolado BS-17 se destacou dos demais quando utilizado isoladamente.

Tabela 2. Efeito de agentes de biocontrole sobre a população de fitonematoides em raízes de mudas de bananeiras em vasos contendo solo naturalmente infestado.

Tratamentos	<i>Pratylenchus</i> sp.	<i>Helicotylenchus</i> sp.	<i>Radopholus</i> sp.	População total
Testemunha	49,3 a* (00,0%) ¹	20,8 a (00,0%)	4,4 a (00,0%)	74,6 a (00,0%)
Nemax	37,2 a (24,5%)	10,0 a (51,9%)	2,5 a (43,2%)	47,5 a (36,3%)
Labotricho	33,0 a (33,1%)	11,0 a (47,1%)	6,4 a (-45,4%)	50,5 a (32,3%)
FM	63,6 a (-29,0%)	8,2 a (60,6%)	5,2 a (-18,2%)	77,0 a (-0,32%)
BS-12	15,6 a (68,4%)	4,6 a (77,9%)	1,7 a (61,4%)	23,8 a (68,1%)
BB-6	20,7 a (58,0%)	5,3 a (74,5%)	2,9 a (34,1%)	28,9 a (61,3%)
BB-3	35,9 a (27,2%)	8,3 a (60,1%)	2,4 a (45,4%)	46,6 a (37,5%)
BS-8	64,4 a (30,6%)	13,8 a (33,6%)	1,0 a (77,3%)	79,2 a (-6,2%)
BS-17	22,4 a (54,6%)	5,3 a (74,5%)	0,7 a (84,1%)	28,3 a (62,1%)
FM+BS-12	37,9 a (23,1%)	8,8 a (57,7%)	1,9 a (56,8%)	48,6 a (34,9%)
FM+ BB-6	30,6 a (37,9%)	4,3 a (79,3%)	2,5 a (43,2%)	37,3 a (50,0%)
FM+ BB-3	58,5 a (-18,7%)	12,0 a (42,3%)	4,2 a (4,5%)	62,0 a (16,9%)
FM+ BS-8	45,3 a (8,1%)	9,8 a (52,9%)	1,1 a (75,0%)	56,2 a (24,7%)
FM+ BS-17	48,3 a (2,0%)	10,9 a (47,6%)	3,2 a (27,3%)	62,4 a (16,3%)
C.V.	72,6	85,0	121,8	72,8

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

¹ C.R.(%) = (PC - PT)/PC x 100, sendo:

CR = Controle relativo;

PC = População de nematoides no tratamento controle;

PT = População de nematoides no tratamento com o agente de biocontrole.

Tabela 3. Efeito de agentes de biocontrole sobre a população de fitonematoides em solo naturalmente infestado e cultivado com mudas de bananeiras micropropagadas.

Tratamentos	<i>Pratylenchus</i> sp.	<i>Helicotylenchus</i> sp.	<i>Radopholus</i> sp.	População total
Testemunha	212,9 a* (00,0%) ¹	97,8 a (00,0%)	29,5 a (00,0%)	340,2 a (00,0%)
Nema 1	126,0 abc (40,8%)	72,2 ab (26,2%)	38,0 a (-28,8%)	236,1 abc (30,6%)
Nema 2	117,4 abc (44,9%)	50,0 ab (48,9%)	17,3 a (41,3%)	184,7 abc (45,7%)
FM	190,3 ab (10,6%)	51,7 ab (47,1%)	18,4 a (37,6%)	260,4 abc (23,4%)
BS-12	155,5 abc (27,0%)	80,3 ab (17,9%)	55,1 a (-86,8%)	290,9 ab (14,5%)
BB-6	118,6 abc (44,3%)	65,8 ab (32,7%)	31,8 a (-7,8%)	216,3 abc (36,4%)
BB-3	101,2 abc (52,5%)	27,2 ab (72,2%)	15,2 a (48,5%)	143,6 abc (57,8%)
BS-8	119,6 abc (43,8%)	47,7 ab (51,2%)	16,1 a (45,4%)	183,4 abc (46,1%)
BS-17	46,1 c (78,3%)	11,8 b (87,9%)	6,2 a (79,0%)	64,1 c (81,2%)
FM+BS-12	90,3 bc (57,6%)	68,9 ab (29,5%)	8,3 a (71,9%)	167,5 abc (50,8%)
FM+BB-6	90,1 bc (57,7%)	55,7 ab (43,0%)	29,4 a (0,3%)	174,1 abc (48,8%)
FM+BB-3	113,4 abc (46,7%)	56,5 ab (42,2%)	26,3 a (10,8%)	196,2 abc (42,3%)
FM+BS-8	91,3 bc (57,1%)	27,5 ab (71,9%)	22,1 a (25,1%)	140,9 abc (58,6%)
FM+BS-17	75,3 bc (64,6%)	34,2 ab (65,0%)	3,5 a (88,1%)	113,0 bc (66,8%)
C.V.	46,6	68,8	105,7	51,1

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

¹ C.R.(%) = (PC - PT)/PC x 100, sendo:

CR = Controle relativo;

PC = População de nematoides no tratamento controle;

PT = População de nematoides no tratamento com o agente de biocontrole.

V

ários compostos com ação nematicida produzidos por rizobactérias estão envolvidos no biocontrole de diversos nematoides, tais como *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Heterodera glycines* e *Bursaphelenchus xylophilus* (SEONG et al., 2021). Outros mecanismos envolvendo a ação

das rizobactérias no solo, podem ocorrer na forma de competição por espaço e nutrientes, produção de compostos antagônicos, ou mesmo, a produção, pela planta hospedeira, de substâncias repelentes ou que afetem o reconhecimento do sítio de alimentação pelo nematoides (MHATRE et al.,

2019).

No efeito conjunto dos isolados bacterianos com o fungo micorrízico no solo, verificou-se que os isolados BS-17, BS-12, BB-6 e BS-8 foram os que mais apresentaram potencial de uso no biocontrole de fitonematoides, com níveis de controle variando entre 57,1% e 64,6% para *Pratylenchus* sp. e 66,6% de controle na população total de fitonematoides por FM+BS-17. Existe a possibilidade de que estejam ocorrendo, não só os mesmos mecanismos de biocontrole associados à presença das bactérias testadas, mas, também, mecanismos diretos relacionados à presença do fungo micorrízico na rizosfera, como a antibiose, competição por espaço e nutrientes e alteração na composição dos exsudatos radiculares, podendo interferir no reconhecimento da planta hospedeira, reduzindo a atração dos nematoides e, conseqüentemente, o

estabelecimento da relação parasitária nas raízes das plantas. Indiretamente, a promoção do crescimento de uma diversidade de microrganismos no solo, que poderia incluir rizobactérias de vários gêneros, devido à alteração da composição dos exsudatos radiculares, com ação na supressão da população de nematoides (VOS et al., 2012; MATHRE et al., 2019; SHARMA et al., 2021; SILVA et al., 2021).

Ao se analisar as variáveis Altura das Plantas (HP), Diâmetro do Caule (DC), Peso Fresco das Raízes (PFR) e Peso Seco da Parte Aérea (PSA), observou-se que apenas o tratamento com Nema 1 proporcionou um aumento significativo no DC de mudas de bananeira quando comparado ao tratamento FM+BB-6 (27,6%). Os demais tratamentos não proporcionaram aumento no crescimento de mudas de bananeiras (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito de agentes de biocontrole no crescimento de mudas de bananeira micropropagadas, em solo naturalmente infestado com nematoides

Tratamentos	Altura das Plantas (cm)	Diâmetro do Caule (mm)	Peso Fresco da Raiz (g)	Peso Seco da Parte Aérea (g)
Testemunha	30,1 a* (0,0%) ¹	27,8 ab (0,0%)	195,4 a (0,0%)	34,2 a (0,0%)
Nema 1	32,0 a (6,3%)	32,1 a (15,4%)	232,3 a (18,9%)	36,5 a (6,7%)
Nema 2	31,7 a (5,3%)	28,3 ab (1,8%)	206,1 a (5,5%)	34,4 a (0,6%)
FM	33,2 a (10,3%)	25,9 ab (-6,8%)	173,4 a (-11,2%)	33,6 a (-1,7%)
BS-12	29,4 a (-2,3%)	29,9 ab (7,6%)	192,3 a (-1,6%)	32,4 a (-5,3%)
BB-6	30,2 a (0,3%)	27,4 ab (1,4%)	182,7 a (-6,5%)	33,2 a (-2,9%)
BB-3	31,7 a (5,3%)	28,3 ab (1,8%)	211,5 a (8,2%)	34,8 a (1,7%)
BS-8	30,3 a (0,7%)	27,1 ab (2,5%)	182,7 a (-6,5%)	32,1 a (-6,1%)
BS-17	31,0 a (3,0%)	30,1 ab (8,3%)	203,7 a (4,2%)	34,8 a (1,7%)
FM+BS12	32,0 a (6,3%)	26,1 ab (-6,1%)	182,1 a (-6,8%)	33,9 a (-0,9%)
FM+BB-6	31,5 a (4,6%)	24,5 b (-12,2%)	169,7 a (-13,1%)	31,6 a (-7,6%)
FM+BB-3	29,3 a (-2,6%)	27,1 ab (-2,5%)	177,3 a (-9,3%)	31,7 a (-7,3%)
FM+BS-8	30,8 a (2,3%)	28,1 ab (1,1%)	214,1 a (9,6%)	36,3 a (6,1%)
FM+BS-17	30,4 a (1,0%)	25,5 ab (-8,3%)	207,8 a (6,3%)	32,2 a (-5,8%)
C.V.	14,9	11,6	14,8	10,1

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

¹ C.R.(%) = (CT - CC)/CC x 100, sendo:

CR = Crescimento relativo;

CT = Crescimento vegetal no tratamento com o agente de biocontrole;

CC = Crescimento vegetal no tratamento controle.

Embora se esperasse um aumento na produção de biomassa nas plantas de banana, decorrente da ação benéfica dos isolados bacterianos, uma vez que foram selecionados originalmente quanto à produção de auxinas e testados posteriormente nesse estudo quanto ao antagonismo e, especialmente, quando utilizados em conjunto com o fungo micorrízico, observou-se uma baixa resposta das plantas de banana em termos de promoção de crescimento vegetal e no qual nenhum dos tratamentos testados se mostrou eficiente no aumento da produção de biomassa vegetal e em todas as variáveis avaliadas.

Resultados semelhantes foram relatados por Vos et al. (2013) que observaram o biocontrole de *M. incognita* por fungos micorrízicos arbusculares em raízes de tomateiro, porém, sem alteração nos parâmetros de promoção de

crescimento das plantas colonizadas pelos fungos micorrízicos, onde os autores atribuíram o controle à identificação de genes associados à ativação dos mecanismos de defesa da planta e, possivelmente, à alteração da composição dos exsudatos radiculares, favorecendo o aumento da comunidade microbiana antagônica aos nematoides. Frew et al. (2018), ao avaliarem o efeito de quatro espécies de fungos micorrízicos arbusculares no controle de *Pratylenchus neglectus* em duas variedades de trigo, observaram que, embora tenha ocorrido o efeito benéfico do aporte de nutrientes nas raízes e conseqüente aumento nas concentrações de fósforo, potássio, cobre e zinco, por outro lado, houve uma redução na produção de biomassa das plantas e um aumento na população do nematoide. Nesse caso, devido à supressão nos níveis de compostos de defesa das plantas, o que favoreceu

o aumento da susceptibilidade aos agentes fitopatogênicos.

Uma vez que há relatos de que o efeito dos agentes de biocontrole pode ser menos efetivo, ou mesmo, ausente e dependente de vários fatores, como a espécie de fungo micorrízico utilizada, da espécie vegetal hospedeira, das condições ambientais e de solo (VOS et al., 2012), ao mesmo tempo em que os mecanismos específicos de ação envolvidos no biocontrole, identificação dos compostos com ação nematicida e dos exsudatos radiculares produzidos permanecem desconhecidos (CAMPOS, 2020), há a necessidade da realização de mais estudos para a avaliação do real potencial de uso dos agentes de biocontrole testados: o modo de ação, a sua aplicação em diferentes concentrações, a sua reação a diferentes plantas hospedeiras, tipos de solo e outros fatores, como a exposição a agroquímicos, por exemplo.

Conclusões

Os isolados bacterianos BB-6, BS-12, BB-9, BS-8 e BS-17 inibem o crescimento micelial de *Mycosphaerella musicola* em testes de antagonismo “in vitro”;

Nas condições deste experimento, nenhum dos agentes de biocontrole é eficiente em reduzir as populações de *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp. e *Radopholus* sp. em raízes de mudas de bananeiras;

Os tratamentos BS-17, FM+BS-12, FM+BB-6 e FM+BB-17 são eficientes em reduzir as populações de *Pratylenchus* sp. em solo naturalmente infestado com nematoides;

O isolado BS-17 é eficiente em reduzir as populações de *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp. e a população total de fitonematoides em solo, de forma isolada ou conjuntamente com o fungo micorrízico (FM);

Nenhum dos tratamentos utilizados é eficiente em reduzir as populações de *Radopholus* sp., tanto no solo, quanto em raízes de mudas de bananeiras micropropagadas;

Nenhum dos tratamentos testados é eficiente em promover o crescimento de mudas de bananeiras micropropagadas em solo naturalmente infestado com nematoides.

Referências

BETTIOL, W. Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológico e outras tecnologias. In: CAMPANHOLA, C. BETTIOL, W. (Ed) **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa, 2003.191-215 p.

BULHÕES, C. C.; MELO, I. S.; SHIOMI, H. F. Biocontrole da antracnose em frutos de maracujá amarelo por bactérias antagonistas a fitopatógenos. **Scientific Electronic Archives**, v.12, n.4, p.10-16, 2019.

CARNIEL, E. The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. **Microbes and Infection**, v.3, p.561-569, 2001.

CAMPOS, M.A.S. Bioprotection by arbuscular mycorrhizal fungi in plants infected with *Meloidogyne* nematodes: A sustainable alternative. **Crop Protection**, v.135, p.1-8, 2020.

CHEN, G.; ZHANG, Y.; LI, J.; DUNPHY, G.B.; PUNJA, Z.K.; WEBSTER, J.M. Chitinase activity of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* species, bacterial associates and entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.68, p.101-108, 1996.

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

FALCÃO, J.P. *Yersinia*, **Encyclopedia of Food Microbiology**, v.3, p.2342-2350, 2014.

FREW, A.; POWELL, J.R.; GLAUSER, G.; BENNETT, A.E.; JOHNSON, S.N. Mycorrhizal fungi enhance nutrient uptake but disarm defences in plant roots, promoting plant-parasitic nematode populations. **Soil Biology and Biochemistry**, v.126, p.123–132, 2018.

GEHDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spore of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.46, n.2, p.235-244, 1963.

JANKIEWICZ, U.; BRZEZINSKA, M.S.; SAKS, E. Identification and characterization of a chitinase of *Stenotrophomonas maltophilia*, a bacterium that is antagonistic towards fungal phytopathogens. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.113, n.1, p.30-35, 2012.

JANKIEWICZ, U.; LARKOWSKA, E.; BRZEZINSKA, M.S. Production, characterization, gene cloning, and nematocidal activity of extracellular protease from *Stenotrophomonas maltophilia* N4. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.121, n.6, p.614-618, 2016.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, n.1, p.692, 1964.

KHAN, M.R.; HASAN, M.A. Nematode diversity in banana rhizosphere from west Bengal, India. **Journal of Plant Protection Research**, v.50, n.3, p.263-268, 2010.

KOUR, D.; RANA, K.L.; YADAV, A.N.; YADAV, N.; KUMAR, M.; KUMAR, V.; VYAS, P.; DHALIWAL,

- H.S.; SAXENA, A.K. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.23, p.1-11, 2020.
- KUBO, R.K.; MACHADO, A.C.Z.; OLIVEIRA, C.M.G. Nematoides fitoparasitos da bananeira. **Bananicultura: manejo fitossanitário e aspectos econômicos e sociais da cultura**. São Paulo: Instituto Biológico, v.1, p.136-163, 2013
- LE GUERN, A.S.; MARTIN, L.; SAVIN, C.; CARNIEL, E. Yersiniosis in France: overview and potential sources of infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v.46, p.1-7, 2016.
- MAHMUD, A.A.; UPADHYAY, S.K.; SRIVASTAVA, A.K.; BHOJIYA, A.A. Biofertilizers: A Nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress. **Current Research in Environmental Sustainability**, v.3, p.1-14, 2021.
- MANTOVANELLO, C.M.; MELO, I.S. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica**, v.20, n.2, p.123-126, 1994.
- MARROCOS, S.T.P.; NOVO JUNIOR, J.; GRANGEIRO, L.C.; AMBRÓSIO, M.M.Q.; CUNHA, A.P.A. Composição química e microbiológica de biofertilizantes em diferentes tempos de decomposição. **Revista Caatinga**, v.25, n.4, p.34-43, 2012.
- MARTINEZ, C.; MICHAUD, M.; BELANGER, R.R.; TWEDDELL, R.J. Identification of soils suppressive against *Helminthosporium solani*, the causal agent of potato silver scurf. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, n.12, p.1861-1868, 2002.
- MEDEIROS, M. B.; LOPES, J.S. Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola. **Bahia Agrícola**. P. 24-26, 2006.
- MHATRE, P.H.; KARTHIK, C.; KADIRVELU, K.; DIVV, K.L.; VENKATASALAM, E.P.; SRINIVASAN, S.; RAMKUMAR, G.; SARANYA, C.; SHANMUGANATHAN, R. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for nematodes bio-control. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.17, p.119-128, 2019.
- MOHAMED, C.; NAJLA, S.; OUELLETTE, G.B. Ultrastructure of *in vivo* interactions of the antagonistic bacteria *Bacillus cereus* X16 and *B. thuringiensis* 55T with *Fusarium roseum* var. *sambucinum*, the causal agent of potato dry rot. **Phytopathologia Mediterranea**, v.42, n.1, p.41-54, 2003.
- MUHAMMAD, S.; AMUSA, N.A. *In vitro* inhibition of growth of some seedling blight inducing pathogens by compost-inhabitant microbes. **African Journal of Biotechnology**, v.2, n.6, p.161-164, 2003.
- RAIMI, A.; ROOPNARAIN, A.; ADELEKE, R. Biofertilizer production in Africa: Current status, factors impeding adoption and strategies for success. **Scientific African**, v.11, p.1-19, 2021.
- SEONG, J.; SHIN, J.; KIM, K.; CHO, B.K. Microbial production of nematicidal agents for controlling plant-parasitic nematodes. **Process Biochemistry**, v.108, p.69-79, 2021.
- SHARMA, M.; SAINI, I.; KAUSHIK, P.; ALDAWSARI, M.M.; BALAWI, T.A.; ALAM, P. Mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* application reduces root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) infestation in eggplant. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.28, p.3685-3691, 2021.
- SHIOMI, H. F.; SILVA, H. S. A.; MELO, I. S.; NUNES, F. V.; BETTIOL, W. Bioprospecting endophytic bacteria for biological control of coffee leaf rust. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 32-39, 2006.
- SILVA, A.F.; PINTO, J.M.; FRANÇA, C.R.R.S.; FERNANDES, S.C.; GOMES, T.C.A.; SILVA, M.S.L.; MATOS, A.N.B. **Preparo e uso de biofertilizantes líquidos**. 1ª Ed., CPATSA-EMBRAPA: Petrolina, Brasil. 2007. (Comunicado Técnico 130).
- SILVA, M.N.; PINTADO, M.E.; SARMENTO, B.; STAMFORD, N.P.; VASCONCELOS, M.W. A biofertilizer with diazotrophic bacteria and a filamentous fungus increases *Pinus pinaster* tolerance to the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). **Biological Control**, v.132, p.72-80, 2019.
- SILVA, M.T.R.; CALANDRELLI, A.; RINALDI, L.K.; MIAMOTO, A.; MORENO, B.P.; COSTA, W.F.; SILVA, C.; ALBERTON, O.; DIAS-ARIEIRA, C.R. Arbuscular mycorrhizae maintain lemongrass citral levels and mitigate resistance despite root lesion nematode infection. **Rhizosphere**, v.19, p.1-9, 2021.
- SINGH, J.; FAULL, J.L. Antagonism and biological control. In: MUKERJI, K.G.; GARG, K.L. (Eds.) **Biological Control of Plant Diseases**, v.2. CRC Press: Boca Raton, FL., 1988. p.167-177.
- VALIATI, S.; FERRARI, E.; SHIOMI, H.F. Efeito de Isolados Bacterianos no Biocontrole 'in vitro' de *Aspergillus* sp. **Scientific Electronic Archives**, v.1, p.11-15, 2012.

VOS, C.; SCHOUTEDEN, N.; VAN TUINEN, D.; CHATAGNIER, O.; ELSEEN, A.; DE WAELE, D.; PANIS, B.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Mycorrhiza-induced resistance against the rootknot nematode *Meloidogyne incognita* involves priming of defense gene responses in tomato. **Soil Biology & Biochemistry**, v.60, p.45-54, 2013.

VOS, C.; TESFAHUN, A.N.; PANIS, B.; DE WAELE, D.; ELSEEN, A. Arbuscular mycorrhizal fungi induce systemic resistance in tomato against the sedentary

nematode *Meloidogyne incognita* and the migratory nematode *Pratylenchus penetrans*. **Applied Soil Ecology**, v.61, p.1-6, 2012.

VOS, C.; VAN DEN BROUCKE, D.; LOMBI, F.M.; DE WAELE, D.; ELSEEN, A. Mycorrhiza-induced resistance in banana acts on nematode host location and penetration. **Soil Biology & Biochemistry**, v.47, p.60-66, 2012. ALFENAS, A.C. et al. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa: UFV, 2.ed, 500p, 2009.