



Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal no Semiárido

**BACTÉRIAS DE DIFERENTES NICHOS NO CONTROLE DO COMPLEXO
Fusarium spp X Meloidogyne E NA PRODUTIVIDADE DA BANANEIRA**

BRUNA HANIELLE CARNEIRO DOS SANTOS

2019

BRUNA HANIELLE CARNEIRO DOS SANTOS

**BACTÉRIAS DE DIFERENTES NICHOS NO CONTROLE DO COMPLEXO *Fusarium* spp x
Meloidogyne E NA PRODUTIVIDADE DA BANANEIRA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Orientadora
Prof^a. Dra. Adelica Aparecida Xavier

JANAÚBA-MG
2019

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Santos, Bruna Hanielle Carneiro dos

S237b Bactérias de diferentes nichos no controle do complexo Fusarium spp x Meloidogyne e na produtividade da bananeira [manuscrito] / Bruna Hanielle Carneiro dos Santos – 2019.
87 p.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2019.

Orientadora: Profª. D. Sc. Adelica Aparecida Xavier.

1. Banana. 2. Murcha de fusarium da banana. 3. Nematoda. 4. Produtividade. I. Xavier, Adelica Aparecida. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD.634.772

BRUNA HANIELLE CARNEIRO DOS SANTOS

**BACTÉRIAS DE DIFERENTES NICHOS NO CONTROLE DO COMPLEXO *Fusarium* spp x
Meloidogyne E NA PRODUTIVIDADE DA BANANEIRA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2019.

Prof^ª. Dra. Adélica Aparecida Xavier
UNIMONTES (Orientadora)

Prof^ª. Dra. Regina Cássia Ferreira Ribeiro
UNIMONTES (Coorientadora)

Prof. Dr. Edson Hiydu Mizobutsi
UNIMONTES (Conselheiro)

Prof. Dr. Fernando da Silva Rocha
UFMG (Conselheiro)

Eng^ª. Agr. Dra. Maria Geralda Vilela Rodrigues
EPAMIG (Conselheira)

**JANAÚBA-MG
2019**

Ao meu amado Pai Pedro Ferreira dos Santos (in memoriam); aos meus irmãos Hebert e Rayane; ao meu amado sobrinho Pedro; e ao meu companheiro e amigo Guilherme, pelo ponto de apoio e incentivo que me proporcionam.

Dedico

AGRADECIMENTOS

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”
(Provérbios 16:3)

A Tese de Doutorado ora apresentada, representa um emocionante ciclo que agora termina, proporcionou-me formação, conhecimento, amizade, solidariedade e, acima de tudo, crescimento individual. Este meu percurso não se mostrou solitário, na medida em que foram vários os que me acompanharam, incentivaram e guiaram. Em consequência, e porque nada conseguiria sozinha, gostaria de prestar os meus agradecimentos:

A Deus, por todas as bênçãos concedidas e por toda proteção durante os momentos difíceis desta caminhada;

À Universidade Estadual de Montes Claros e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Unimontes, pelo ensino e formação profissional no curso de Agronomia, Mestrado e Doutorado;

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro;

À minha orientadora, professora Adélica Aparecida Xavier, por sempre ter acreditado no meu potencial, pela orientação, oportunidade de aprendizado e crescimento, realização profissional, incentivo e pela confiança em mim depositada. Obrigada por tudo!

À minha coorientadora professora Regina Cássia Ferreira Ribeiro, pela dedicação, ensinamentos e apoio durante a minha jornada acadêmica no laboratório de Fitopatologia, da graduação ao Doutorado;

Aos membros da banca, pela disponibilidade em contribuir;

Ao meu pai, Pedro Ferreira dos Santos (*in memoriam*), por todo cuidado, amor, zelo e dedicação, pelos ensinamentos e por sempre acreditar! Mesmo não estando presente posso senti-lo constantemente ao meu lado, me direcionando, guardando e protegendo. E se outras vidas eu viver, que eu tenha a sorte de ser sua filha novamente em todas elas. Muito obrigado por tudo! Você sempre estará presente nas minhas orações, nos meus pensamentos e no meu coração. **SAUDADES...**

Aos meus irmãos Hebert e Rayane por toda ajuda, presença e amor. Ao sobrinho Pedro presente de Deus, por alegrar a minha vida, todos os dias. Titia te ama mais que tudo;

Ao Guilherme, meu companheiro e amigo, sempre presente nesta tão marcante etapa das nossas vidas;

À minha mãe, avós Ana e Eva e demais familiares em especial Fernanda e Joyce pelo incentivo diário, amor, carinho, compreensão e orações. Vocês são exemplo e a base de tudo;

Aos amigos que conquistei em Janaúba ao longo destes anos: Paty, Karol, Thais e em especial a Pablo, Josy e Bel, por todo auxílio na elaboração deste trabalho;

A todo o pessoal do laboratório de Fitopatologia da Unimontes, Dani, Lucas, Renato e Poli, pela agradável convivência e auxílio de sempre;

Aos funcionários da Unimontes, por toda ajuda em especial a dona Cidinha, Joilton, Adelino, Juliano, Gevaldo e os motorista Marisson, Warley e Mário Jorge;

Ao Rodrigo, que cedeu a fazenda Saruê para a execução do trabalho, em especial a Romilsom por toda ajuda na condução do experimento;

Por fim, a todos aqueles que torceram, acreditaram e incentivaram durante esta árdua jornada.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	ix
GENERAL ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO I.....	21
ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. cubense</i> E <i>Meloidogyne javanica</i> EM MUDAS DE BANANEIRA	21
RESUMO	23
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS	26
Biocontrole de <i>foc</i> por bactérias aplicadas durante a aclimação e após o plantio de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’	27
Biocontrole de <i>M. javanica</i> por bactérias na aclimação e após o plantio em vasos em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’	29
Análises estatísticas.....	31
RESULTADOS	31
Biocontrole de <i>foc</i> por bactérias aplicadas na aclimação e após o plantio de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’	31
Biocontrole de <i>M. javanica</i> em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ por bactérias na aclimação e após o plantio em vasos de mudas micropropagadas.	34
DISCUSSÃO.....	38
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPITULO II	49
UTILIZAÇÃO DE <i>BACILLUS PUMILUS</i> NO CONTROLE DO COMPLEXO <i>Meloidogyne javanica</i> X <i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. cubense</i> EM BANANEIRA.....	49
RESUMO	51
ABSTRACT	52
INTRODUÇÃO	53
MATERIAL E MÉTODOS	54
RESULTADOS	56

DISCUSSÃO.....	59
CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
CAPITULO III.....	67
AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE BANANAL ‘PRATA-ANÃ’ NO NORTE DE MINAS GERAIS POR <i>Bacillus pumilus</i> (E-09).....	67
RESUMO	69
ABSTRACT	69
MATERIAL E MÉTODOS	72
Multiplicação e formulação de <i>B. pumilus</i> (E-09) a base de arroz	72
Viabilidade de inoculante com <i>B. pumilus</i> (E-09) formulado em arroz.....	73
Experimento de campo em bananal comercial, em Nova Porteirinha – MG.....	73
RESULTADOS.....	76
Viabilidade do inoculante com <i>B. pumilus</i> (E-09) a base de arroz.	76
Avaliação de crescimento e produtividade de bananeira inoculadas com produtos biológicos.....	76
DISCUSSÃO.....	79
CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	82
CONCLUSÃO GERAL	87

RESUMO GERAL

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Bactérias de diferentes nichos no controle do complexo *Fusarium* spp x *Meloidogyne* e na produtividade da bananeira.** 2019. 87 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG¹.

Com o objetivo de estudar a bioaumentação de antagonistas na rizosfera de bananeira como estratégia de manejo do complexo *Fusarium* x nematoide, foram realizados três experimentos. Inicialmente, avaliou-se épocas de inoculação de bactérias no controle de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e de *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em esquema fatorial 2 x 12 + 3, sendo: duas épocas de aplicação dos agentes de biocontrole, durante o período de aclimação (Época 1) e após plantio em vasos (Época 2); 12 isolados bacterianos; e três tratamentos adicionais: 1) mudas inoculadas com *foc*; 2) mudas inoculadas com *foc* + produto biológico comercial a base de *Trichoderma asperellum* e 3) testemunha absoluta sem inoculação de patógeno e agentes bacterianos. Para o ensaio no controle de *M. javanica* os tratamentos adicionais constituíram de: 1) mudas inoculadas com *M. javanica*; 2) mudas inoculadas *M. javanica* + produto biológico comercial a base de *Bacillus metlylotrophicus* e 3) testemunha absoluta sem inoculação de patógeno e isolados bacterianos. No 2º experimento, foi avaliado a reação das variedades Prata-Anã e Maçã ao nematoide *M. javanica* (Mj) e ao fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*), e as interações entre eles e o efeito de *Bacillus* sp na reprodução do nematoide e na severidade da murcha de *Fusarium*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizados (DIC), com sete repetições em esquema fatorial de 2 x 7 sendo: duas variedade de banana Prata-Anã e Maçã, e sete tratamentos: 1) Testemunha absoluta (sem patógeno e agente de biocontrole); 2) mudas inoculadas com *foc* e nematoide mais o agente de biocontrole (*Bacillus* sp. E-09); 3) mudas inoculadas com *foc* e nematoide sem o agente de biocontrole; 4) mudas inoculadas com *foc* e o agente de biocontrole (*Bacillus* sp. E-09); 5) mudas inoculadas com *foc* sem o agente de biocontrole; 6) mudas inoculadas com Mj e o agente de biocontrole (*Bacillus* sp. E-09); 7) mudas inoculadas com Mj sem o agente de biocontrole. No 3º experimento, foi avaliado a formulação de *Bacillus* sp. em arroz, como inoculante na cultura da banana visando a promoção de crescimento. O experimento foi conduzido em uma área de cultivo comercial de bananeira, na cidade de Nova Porteirinha – MG, no período de setembro de 2017 a dezembro de 2018. O delineamento experimental foi em blocos casualizado em esquema fatorial 2 x 4, os tratamentos consistiram de duas variedades de banana Maçã e Prata-Anã e aplicação de três formulações com espécies de microrganismos e a testemunha absoluta. As épocas de aplicação dos isolados bacterianos interferem no controle da murcha de *Fusarium* e *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’. Os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) reduzem o índice de gravidade da doença quando aplicados após o plantio das mudas de bananeira ‘Prata-Anã’. Os isolados *B. subtilis* (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp (R-76) e *B. pumilus* (E-09) reduzem a capacidade reprodutiva de *M. javanica*, quando inoculados na aclimação e após o plantio de mudas de bananeira ‘Prata Anã’ em vasos (Experimento 1). A presença

²Comitê de Orientação: Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavie – UNIMONTES (Orientadora); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Coorientadora).

simultânea de *M. javanica* e *foc* sem a inoculação de *Bacillus* sp. aumenta a reprodução de nematoides e a severidade da murcha de *Fusarium*. A presença do isolado *Bacillus* sp. reduz a reprodução de nematoides e severidade de murcha de *Fusarium*. O isolado *Bacillus* sp. E-09 apresenta potencial para o tratamento de mudas de bananeira visando o controle de *M. javanica* e da murcha de *Fusarium* (Experimento 2). O número de frutos por penca, massa do cacho, massa da penca, massa do engaço e o diâmetro do fruto de bananeira foram significativamente influenciados pelo uso dos produtos biológicos, principalmente os contendo espécies de *Bacillus spp.* Nas condições de campo testada *Bacillus* sp. (E-09) se mantém até 180 dias na formulação a base de arroz e aumenta número de frutos por penca, massa do cacho e o diâmetro do fruto em bananeira; *T. asperellum* aumenta a produtividade de banana ‘Maçã’ (Experimento 3).

Palavras-chave: Bactérias promotoras do crescimento em plantas (BPCP), Controle biológico, *Musa spp.*

GENERAL ABSTRACT

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. 2019. **Bacteria of different niches in the control of the complex *Fusarium* spp x Meloidogyne and banana productivity.** 87 p. Thesis (Doctor's Degree in Plant Production in Semi-Arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG².

Aiming to study the bioaugmentation of antagonists in the banana rhizosphere as a management strategy of the *Fusarium* x nematoid complex, three experiments were carried out. In the 1^o experiment, inoculation times of bacteria were evaluated in the control of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* and *M. javanica* on micropropagated seedlings of 'Prata-Anã' banana tree. The experiment was conducted in a greenhouse under a 2 x 12 + 3 factorial scheme, being: two application times of the biocontrol agents during the acclimatization period (Season 1) and after planting in pots (Season 2); 12 bacterial isolates; and three additional treatments: 1) inoculated seedlings with foc; 2) seedlings inoculated with foc + commercial biological product based on *Trichoderma asperellum* and 3) absolute control without inoculation of pathogen and bacterial agents. For the control trial of *M. javanica* the additional treatments consisted of: 1) seedlings inoculated with *M. javanica*; 2) inoculated seedlings *M. javanica* + commercial biological product based on *Bacillus metlylotrophicus*) and 3) absolute control without inoculation of pathogen and bacterial isolates. In the 2^o. experiment, the reaction of the varieties 'Prata-Anã and Maçã' was evaluated to the nematode *M. javanica* (Mj) and the fungus *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*), and the interactions between them and the effect of *Bacillus* sp on nematode reproduction and on the severity of *Fusarium* wilt. The experiment was conducted in a completely randomized design with seven replications in a 2 x 7 factorial scheme: two varieties of 'Prata-Anã and Maçã' banana, and seven treatments: 1) Absolute Witness (without pathogen and biocontrol agent); 2) seedlings inoculated with foc and nematoid plus the biocontrol agent (*Bacillus* sp. E-09); 3) seedlings inoculated with foc and nematoid without the biocontrol agent; 4) seed inoculated with foc and the biocontrol agent (*Bacillus* sp. E-09); 5) seedlings inoculated with foc without the biocontrol agent; 6) seedlings inoculated with Mj and the biocontrol agent (*Bacillus* sp. E-09); 7) seedlings inoculated with Mj without the biocontrol agent. In the 3^o experiment, the formulation of *Bacillus* sp. in rice, as an inoculant in banana cultivation aimed at promoting growth. The experiment was carried out in a commercial banana growing area, in the city of Nova Porteirinha - MG, from September 2017 to December 2018. The experimental design was a randomized block design in a 2 x 4 factorial scheme, treatments consisted of two banana varieties Maçã and Prata-Anã and application of three formulations with species of microorganisms and the absolute control. The application times of the bacterial isolates interfere in the control of the wilt of *Fusarium* and *M. javanica* in micropropagated banana seedlings 'Prata-Anã'. The isolates *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) and *Bacillus* sp. (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp. (E-13) is a severity of the *Fusarium* wilt when submitted to the planting of 'Prata-Anã' banana seedlings. The isolates *B. subtilis* (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp (R-76) and *B. pumilus* (E-09) a reproductive capacity of *M. javanica*, when inoculated in acclimatization and after the planting of 'Prata Anã' banana seedlings in pots (Experiment 1). The simultaneous presence of *M. javanica* and foc without the inoculation of *Bacillus* sp. increases nematode reproduction and

² **Comitê de Orientação:** Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Orientadora); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Coorientadora).

the severity of *Fusarium* wilt. The presence of *Bacillus* sp. reduces nematode reproduction and *Fusarium* wilt severity. The isolate *Bacillus* sp. Epi 09 presents potential for the treatment of banana tree seedlings for control of *M. javanica* and *Fusarium* wilt (Experiment 2). The number of fruits per shoot, shoot mass, shoot mass, shoot mass and diameter of the banana fruit were significantly influenced by the use of biological products, especially those containing *Bacillus* spp. Under field conditions tested *Bacillus* sp. (E-09) is maintained up to 180 days in the formulation based on rice and increases number of fruits per penca, mass of the bunch and the diameter of the fruit in banana tree; *T. asperellum* increases productivity of ‘Maçã’ banana tree (Experiment 3).

Keywords: Biological control, Growth-promoting bacteria in plants (GPBP), *Musa* spp.

INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da banana é cultivada em todo o território brasileiro, destacando as regiões Nordeste e Sudeste, onde juntas respondem por 64 % da produção nacional (IBGE, 2017). O estado de Minas Gerais, terceiro maior produtor nacional e a região Norte de Minas Gerais vem se destacando como um grande pólo frutícola do Brasil, tendo a cultura da banana como a sua principal atividade agrícola. Nessa região, a bananeira encontra condições edafoclimáticas favoráveis para uma elevada produtividade, com frutos de boa qualidade. Além disso, a cultura exerce importante papel socioeconômico para a região, pois movimenta a economia e gera empregos diretos e indiretos, além de representar importante fonte de renda para pequenos e grandes agricultores (SALOMÃO *et al.*, 2016).

Durante todo o seu ciclo vegetativo e produtivo, a cultura da banana é afetada por diversos problemas fitossanitários, causados por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Dentre estes, a murcha de *Fusarium* causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*) e os nematoides das galhas *Meloidogyne* spp. assumem importância significativa, devido às perdas causadas aos bananais (PLOETZ, 2015). Esses patógenos possuem a capacidade de sobreviver por longos períodos no solo sem a presença de seu hospedeiro principal, o que dificulta a adoção de métodos de controle eficientes.

O estabelecimento do fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ocorre via sistema radicular, principalmente nas raízes secundárias, e a doença pode ser disseminada de diversas formas (LI *et al.*, 2013; CORDEIRO *et al.* 1993).

As plantas infectadas apresentam uma série de sintomas externos e internos. Os sintomas na parte externa da planta se caracterizam por um amarelecimento progressivo das folhas mais velhas evoluindo para as mais novas, iniciando pelos bordos do limbo foliar em direção à nervura central. Com o progresso da doença, as folhas murcham, secam e quebram junto ao pseudocaule ficando pendentes, dando à planta uma aparência de “guarda-chuva fechado” (BORGES e SOUZA, 2004; FERNANDES, 2006). Internamente é possível observar necrose pardo-avermelhada do sistema vascular das raízes, rizoma, pseudocaule e pecíolo das folhas, provocada pela presença do patógeno nos vasos (ALVES, 1999; CORDEIRO, 2000).

A murcha de *Fusarium* é agravada pela presença de nematoides. Estes causam ferimentos nas raízes que facilitam a penetração do fungo (CORDEIRO e MATOS, 2000). O principal sintoma causado por *Meloidogyne* spp. na bananeira é a formação de galhas radiculares. Estas consistem no engrossamento das raízes, devido à hipertrofia e hiperplasia

celular do cilindro vascular. Outros sintomas são a rachadura, paralisação do crescimento da ponta da raiz, necrose e redução do sistema radicular, e sintomas reflexos na parte aérea. Os danos causados na bananeira são diretamente proporcionais à densidade das populações e alta infestação causa redução de perfilhamentos, diminuição do tamanho e do peso dos frutos, além de atrasar a maturação dos cachos (COSTA, 2000).

Várias medidas são utilizadas na prevenção e manejo de *foc* e fitonematoides, como controle químico, adubação equilibrada, condução adequada do bananal e utilização de cultivares resistentes. Esta última medida é a mais eficiente, entretanto para nematoides nem sempre é possível, apesar de haver variedades descritas como resistentes, a variabilidade das populações no campo tem se mostrado um problema na adoção desta técnica com segurança. No caso da murcha de *Fusarium*, as variedades disponíveis ainda possuem restrições de mercado, o que desestimula seu plantio em regiões afetadas pela doença (VENTURA e HINZ, 2002).

O controle biológico é uma estratégia que tem ganhado espaço dentro do sistema de manejo desta doença e a pesquisa tem buscado conhecimento no sentido de conhecer e selecionar microrganismos eficientes para ser utilizados. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) ou rizobactérias constituem um grupo de bactérias benéficas que, em associação com as raízes, podem estimular e promover o crescimento vegetal.

Essa interação entre plantas e microrganismos pode estimular o crescimento das culturas, devido ao aumento da disponibilidade de nutrientes como o fósforo (KUMAR *et al.*, 2015) e ferro (GHOSH *et al.*, 2015), fixação biológica de nitrogênio (FBN) (SAAVEDRA *et al.*, 2017) e produção de fitormônios principalmente auxinas, citocininas, etileno e giberelinas (NGHIA *et al.*, 2017). O maior crescimento das plantas pode ocorrer ainda por meio de mecanismos indiretos, como o controle de fungos e nematoides (TIAN *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2012).

Pesquisas em todo mundo têm sido realizadas com rizobactérias, principalmente do gênero *Bacillus* spp., visando sua utilização como biofertilizante no crescimento de plantas (BASHAN *et al.*, 2015; TORRES *et al.*, 2017) e como produtos biológicos de controle de fitopatógenos (GHOSH *et al.*, 2015; TORRES *et al.*, 2017).

Na literatura, há vários relatos de diferentes espécies de *Bacillus* sp. no controle de espécies de *Meloidogyne* spp. (DAWAR *et al.*, 2008; ARAÚJO e MARCHESI, 2009; FERNANDES *et al.*, 2014; LEE e KIM, 2015; CHINEYE *et al.*, 2017). De acordo com Ludwig *et al.* (2013), o controle de nematoides pode ser explicado pela ação direta dessas bactérias sobre a população do nematoide, através da produção de antibióticos e metabólitos

tóxicos, ou pela ação indireta através da modificação de exsudatos radiculares, afetando o desenvolvimento de cada estágio do ciclo de vida do nematoide.

Patel *et al.* (2011) estudaram a ação de alguns compostos secundários produzidos por *Bacillus* sp. sobre a permeabilidade da membrana fúngica e concluíram que alguns destes compostos secundários promovem a abertura de poros na membrana, acarretando em extravasamento do conteúdo celular de suas hifas. Resultados semelhantes foram observados nas hifas de *F. oxysporum* (MONTALVÃO, 2016).

Heidarzadeh e Baghaee-Ravari (2015), trabalhando com *B. pumilus* no controle biológico da muita de fusarium em tomateiro, comprovaram que a bactéria coloniza e sobrevive na rizosfera das plantas de tomate formando biofilme, produzem auxinas e sideróforos, contribuindo com a redução da incidência da doença.

Atualmente existem no mercado vários produtos a base de *Bacillus* spp utilizados no controle biológico como: Kodiak[®] (*B. subtilis* GB03), Taegro[®]Eco (*B. amyloliquefaciens*) para *Fusarium* spp e Onix[®] (*B. methylotrophicus*); Rizos[®] (*B. subtilis*); NemaControl[®] (*B. amyloliquefaciens*); Quartzo (*B. subtilis* e *B. licheniformis*) e Nematel[®] (*B. subtilis*) para nematoides (MONTALVÃO, 2016).

Para o êxito do controle biológico é importante conhecer o momento ou época favorável para aplicação dos agentes de biocontrole na estratégia da utilização desses microrganismos na agricultura. Com isso, será possível a colonização da rizosfera e de tecidos, garantindo maior produção de antibióticos e metabólitos contra patógenos, principalmente os de solo (LOPES *et al.*, 2018).

Neste sentido, diversos gêneros de bactérias a exemplo de *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. vêm sendo estudados quanto à capacidade de promoção de crescimento e de biocontrole de *Fusarium* e nematoides (FREITAS e PIZZINATTO, 1991; FREITAS e VILDOSO, 2004; WELLER, 2007). Várias bactérias têm sido isoladas da rizosfera de bananeira e tem apresentado potencial no controle de nematoides das galhas e *foc* em bananeira (RIBEIRO *et al.*, 2012; LOPES *et al.*, 2018). Além de outras funções como solubilizadoras de fosfato, produtoras de AIA, sideróforos e de enzimas líticas como lipase, quitinase e protease (SILVA, 2018).

Devido aos seus benefícios, os estudos com Bactérias promotoras de crescimento de plantas visam à possibilidade da sua aplicação em ambientes agrícolas, trazendo ganhos adicionais ao desenvolvimento das plantas, como o menor uso de fertilizantes e o favorecimento na convivência com importantes patógenos, colaborando para um sistema agrícola mais sustentável com intuito de futuras formulações de produtos, como inoculantes

comerciais. No entanto, o potencial dessas bactérias precisa ser melhor avaliado para sustentar futuras adoções de novas práticas agrícolas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. J. **A cultura da banana. Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais.** 2ed. Revisada. EMBRAPA. Serviço de Produção de Informação-SPI. Brasília, 1999, 585p.

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

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E.; PRABHU, S.R.; HERNANDEZ, J.P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.378, p.1-33, 2014.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da banana.** Cruz das Almas. Mandioca e Fruticultura, 279p. 2004.

CHINHEYA, C. C.; YOBO, K.S.; LAING, M.D. Biological control of the rootknot nematode, *Meloidogyne javanica* (Chitwood) using Bacillus isolates on soybean. **Biological Control**, v.109, p.37-41, 2017.

CORDEIRO, Z. J. M.; SHEPHERD, K.; SOARES FILHO, W. S.; DANTAS, J. L. L. Avaliação de resistência ao Mal-do-Panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 4, p. 478-483, 1993.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças fúngicas e bacterianas. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana: fitossanidade.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. cap. 4, p. 36-65.

CORDEIRO, Z.J.M. (Org). **Banana produção: aspectos técnicos.** Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 143 p. 2000.

COSTA, D. C. Doenças causadas por nematoides. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana: fitossanidade.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. v. 1, cap. 5, p. 66-73.

DAWAR, S.; TARIQ, M.; ZAKI, M.J. Application of *Bacillus* species in control of *Meloidogyne javanica* (TREUB) Chitwood on cowpea and mash bean. **Pakistan Journal of Botany**, v.40, n.1, p.439-444, 2008.

FERNANDES, C. F.; COSTA, J. N. M.; HOLANDA FILHO, Z. F.; SOUZA, F. F.. Doenças da bananicultura: mal-do-Panamá. Embrapa (**Circular Técnica 86**) 1ª edição. p. 1-3, 2006.

FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia clamydosporea* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, 30:194-200, 2014.

FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Interações de *Pseudomonas* sp. e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na rizosfera de tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 17, p. 105-112, 1991.

FREITAS, S. S.; VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 987-994, 2004.

GHOSH, P.; RATHINASABAPATHI, B.; MA, L. Q. Phosphorus solubilization and plant growth enhancement by arsenic-resistant bacteria. *Chemosphere*, v. 134, p. 1–6, 2015.

HEIDARZADEHA, N. & BAGHAEI-RAVARI, S. 2015. Application of *Bacillus pumilus* as a potential biocontrol agent of *Fusarium* wilt of tomato. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 48, p. 841-849.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, v.30, n.12, p.1-82, dezembro, 2017.

KUMAR, A. et al. Plant growth-promoting traits of phosphate solubilizing bacteria isolated from *Hippophae rhamnoides* L. (Sea-buckthorn) growing in cold desert Trans-Himalayan Lahul and Spiti regions of India. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 3, p. 1–12, 2015.

LEE, Y.S.; KIM, K.Y. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.164, p.29-39, 2015.

LI, X.; BAI, T.; LI, Y.; RUAN, X.; LI, H. Proteomic analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4-inoculated response to *Fusarium* wilts in the banana root cells, **Proteome Science**, v. 11, n. 1, p. 1, 2013.

LOPES, P. S.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; ROCHA, L. S.; MIZOBUTSI, E. H. Determination of the treatment period of banana seedlings with rhizobacteria in the control of *Meloidogyne javanica*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 4: (e-423), 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018423>.

LUDWIG, J.; MOURA A.B.; GOMES, C.B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, v.38, n.3, p.264-268, 2013.

MACHADO, V.; BERLITZ, D. L.; MATSUMURA, A. T. S.; SANTIN, R. C. M.; GUIMARÃES, A.; SILVA, M. E.; FIUZA, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematoides. **Oecologia Australis**, v. 16, n.2, p.165-182, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2012.1602.02>.

MONTALVÃO, S.C.L. **Uso de *Bacillus* spp. para o biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e *Meloidogyne incognita* no algodoeiro (*Gossypium hirsutum*)**, 2016. 169p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

NGHIA, N. K.; TIEN, T. T. M, OANH, N. T. K.; NUONG, N. H. K. Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid Producing Halophilic Bacteria from Salt Affected Soil of Rice – Shrimp Farming System in the Mekong Delta , Vietnam. **Agriculture, Forestry and Fisheries**, v. 6, n. 3, p. 69-77, 2017.

PATEL, H.; TSCHEKA, C.; EDWARDS, K.; KARLSSON, G.; HEERKLOTZ, H.. All-or-none membrane permeabilization by fengycin-type lipopeptides from *Bacillus subtilis* QST713. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1808, p. 2000-2008, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.04.008>.

PLOETZ, R. C. Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. **Crop Protection**, Lincoln, v. 73, p. 1-9, 2015.

RIBEIRO, R.C.F.; CAMPOS, V.P.; XAVIER, A.A.; ROCHA, L. S.; RIBEIRO, H.B.; AGUIAR, F. M.; SOUZA, R. M.; MIZOBUTSI, E. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal do Panamá em bananeira. **Nematropica**, v.42, n. 2, p. 218-226, 2012.

SAAVEDRA, D. A. C. et al. Rizobacterias que promueven el desarrollo e incremento en productividad de Glycine max L. **Ciencia y Tecnologia**, v. 10, p. 7–15, 2017.

SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L.; LINS, L. C. R.; CECON, P. R. Crescimento e produção da bananeira (*Musa* spp. AAB) ‘Prata-Anã’, oriunda de rizoma e micropropagada. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n.3, p. 340-347, 2016. DOI: 10.1590/0034-737X201663030010.

SILVA, C. M. **Caracterização fisiológica de rizobactérias e desempenho do feijoeiro comum inoculado com bactérias solubilizadoras de fosfato**. 2018. 117 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG3.

TIAN, B.Y.; YANG, J.K.; LIAN, L.H.; WANG, C.Y.; ZHANG, K.Q. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 74: 372-380, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0690-1>.

TORRES, M. J.; BRANDAN, C. P.; SABATÉ, D. C.; PETROSELLI, G.; ROSA ERRA-BALSELLS, R.; AUDISIO, M. C. Biological activity of the lipopeptide-producing *Bacillus amyloliquefaciens* PGPBacCA1 on common bean *Phaseolus vulgaris* L. pathogens. **Biological Control**, v. 105, p. 93–99, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.001>.

VENTURA, J.A.; HINZ, R.H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.). Controle de doenças de plantas fruteiras. Viçosa. Ed. da UFV, p.839-926, 2002.

WELLER, D.M. Pseudomonas biocontrol agents of soilborne pathogens: Looking back over 30 years. **Phytopathology**. v. 97, p. 250-256, 2007.

CAPÍTULO I

ÉPOCAS DE APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* E *Meloidogyne javanica* EM MUDAS DE BANANEIRA

RESUMO

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Épocas de aplicação de bactérias no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *Meloidogyne javanica* em mudas de bananeira.** 2019. 87 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG³.

O objetivo deste trabalho foi avaliar épocas de inoculação de bactérias no controle de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação em esquema fatorial 2 x 12 + 3, sendo: duas épocas de aplicação dos agentes de biocontrole, durante o período de aclimatação (Época 1) e após plantio em vasos (Época 2); 12 isolados bacterianos; e três tratamentos adicionais: 1) mudas inoculadas com *foc*; 2) mudas inoculadas com *foc* + produto biológico comercial a base de *Trichoderma asperellum* e 3) testemunha absoluta sem inoculação de patógeno e agentes bacterianos. Para o ensaio no controle de *M. javanica* os tratamentos adicionais constituíram de: 1) mudas inoculadas com *M. javanica*; 2) mudas inoculadas *M. javanica* + produto biológico comercial a base de *Bacillus metlylotrophicus* e 3) testemunha absoluta sem inoculação de patógeno e isolados bacterianos. Foram mensuradas a severidade da murcha de *Fusarium* e variáveis nematológicas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott. Os tratamentos pareados foram comparados às testemunhas pelo teste de Dunnett. Houve interação significativa entre as épocas de inoculação x isolados bacterianos para as variáveis: lesões no pseudocaule avaliadas de acordo com escala de notas, número de galhas, número de massas de ovos e número de J2/100 cm³ de solo. As épocas de aplicação dos isolados bacterianos interferem no controle da murcha de *Fusarium* e *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’. Os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) reduzem o índice de gravidade da doença quando aplicados após o plantio das mudas de bananeira ‘Prata-Anã’. Os isolados *B. subtilis* (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp. (R-76) e *B. pumilus* (E-09) reduzem a capacidade reprodutiva de *M. javanica*, quando inoculados na aclimatação e após o plantio de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ em vasos.

Palavras-chave: *Bacillus* sp., Mal do Panamá, *Musa* sp., Nematóide das galhas.

²**Comitê de Orientação:** Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Orientadora); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Coorientadora).

ABSTRACT

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Times of application of bacteria in the control of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense and *Meloidogyne javanica* in banana tree seedlings** 2019. 87 p. Thesis (Doctor's degree in Plant Production in the Semi-Arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG⁴.

The aim of this study was to evaluate the inoculation times of bacteria in the control of *F. oxysporum* f. sp. cubense and *M. javanica* in micropropagated seedlings of 'Prata-Anã' banana tree. The experiments were conducted in a greenhouse in a 2 x 12 + 3 factorial scheme, being: two application times of the biocontrol agents: during the acclimatization period (Season 1) and after planting in pots (Season 2); 12 bacterial isolates; and three additional treatments: 1) inoculated seedlings with foc; 2) seedlings inoculated with foc + commercial biological product based on *Trichoderma asperellum* and 3) absolute control without inoculation of pathogen and bacterial agents. For the control trial of *M. javanica* the additional treatments consisted of: 1) seedlings inoculated with *M. javanica*; 2) inoculated seedlings *M. javanica* + commercial biological product based on *Bacillus metlylotrophicus*) and 3) absolute control without inoculation of pathogen and bacterial isolates. The severity of *Fusarium* wilt and nematological variables were measured. The results were submitted to analysis of variance by the Scott-Knott test and the controls compared by the Dunnett test. There was a significant interaction between inoculation times and bacterial isolates for the following variables: pseudocaulis lesions evaluated according to grading scale, number of galls, number of egg mass and number of J2/100 cm³ of soil. The application times of the bacterial isolates interfere in the control of *Fusarium* and *M. javanica* wilt in micropropagated seedlings of 'Prata-Anã' banana. The isolates *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) and *Bacillus* sp. (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp. (E-13) reduced the severity of *Fusarium* wilt when applied after planting of 'Prata-Anã' banana. The isolates *B. subtilis* (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp. (R-76) and *B. pumilus* (E-09) reduce the reproductive capacity of *M. javanica* when inoculated in acclimatization and after planting of 'Prata-Anã' banana seedlings in pots.

Keywords: *Bacillus* sp., *Musa* sp., Panama disease, Root-knot nematode.

² **Guidance Committee:** Prof^a. DSc. Adélica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Advisor); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Co-adviser).

INTRODUÇÃO

Durante o cultivo da bananeira, a incidência de doenças apresenta reflexos negativos tanto na redução da qualidade quanto na produtividade da cultura. Os fitopatógenos que habitam o solo apresentam maior complexidade no seu manejo. Dentre eles, destaca-se o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*) causador da murcha de *Fusarium*. Esta doença é considerada uma das mais destrutivas, provocando perdas elevadas, e é fator limitante ao cultivo de diversas variedades apreciadas pelo mercado, como a banana ‘Maçã’ que é altamente suscetível (CORDEIRO *et al.*, 2004).

A doença pode ser agravada pela presença de nematoides como *Meloidogyne*, mais frequente nas principais regiões produtoras de banana no norte de Minas Gerais. Este nematoide promove ferimentos nas raízes o que facilita a entrada de *foc* (DINESH *et al.*, 2014; ALMEIDA *et al.*, 2018; ROCHA *et al.*, 2018). Em diversos patossistemas, a associação do complexo nematoide x *Fusarium* no sistema radicular aumenta a severidade dos dois fitopatógenos na planta (BACK *et al.*, 2002). Em bananeira, este efeito foi descrito por Rocha *et al.* (2018). A manifestação da murcha de *Fusarium* normalmente é observada quando o dano no sistema radicular e rizoma já é severo e reduz a possibilidade de controle na planta. As medidas de convivência com a doença são essenciais já que os fitopatógenos são habitantes do solo e podem permanecer no solo por muitos anos.

Dentre as medidas de controle, o controle biológico se destaca como promissora por não afetar negativamente o ambiente. Existe também a possibilidade de explorar novos mecanismos de proteção de plantas associados a certos microrganismos. Destes mecanismos, cita-se a produção de enzimas líticas e metabólitos que interferem no processo de reconhecimento da planta hospedeira e a indução de resistência. Além disso, podem favorecer o desenvolvimento da planta (SIDDIQUI e MAHMOOD, 1999; TIAN *et al.*, 2007).

Os agentes de controle biológico mais estudados são os fungos *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* sp. (BETTIOL *et al.*, 2008), as rizobactérias (LOPES *et al.*, 2018) e as bactérias endofíticas (CARDOSO *et al.*, 2012). Muitos destes microrganismos têm sido utilizados em formulações com a intenção de melhorar o desempenho de mudas no campo, podendo ser empregadas para o incremento da produção agrícola como promotoras do crescimento de plantas e como agentes de biocontrole de doenças.

Dentre os diversos gêneros de bactérias se destaca o gênero *Bacillus* spp., em função do grande número de metabólitos bioativos produzidos, com atividade bactericida, fungicida e

nematicida (LUZ, 1996). Estas bactérias também têm capacidade de colonizar e estabelecer interações com raízes através da formação de biofilmes (ALLARD-MASSICOTTE *et al.*, 2016). Em sistemas naturais o biofilme não só fortalece a interação entre plantas e as rizobactérias promotoras de crescimento como também auxilia na competição contra micro-organismos deletérios. Além disso, fornece ao sistema radicular uma barreira protetiva contra o ataque de organismos patogênicos (GUO *et al.*, 2015). Esses efeitos são desejáveis quando se utiliza um agente de biocontrole.

O efeito benéfico dessas bactérias tem sido estudado em varias culturas, podendo atuar tanto na fase de cultivo *in vitro* quanto na fase de aclimação proporcionando maior vigor e adaptação das mudas após o transplante (NOWAK, 1998).

Entretanto, para que ocorram todos os benefícios proporcionados pelas rizobactérias, estas devem colonizar o sistema radicular das plantas com as quais estabelecem uma associação (SILVA *et al.*, 2003).

Além disso, segundo Weller (1988), para que uma rizobactéria seja colonizadora eficiente, quando introduzida, deve ser capaz de se espalhar ao longo da raiz em condições naturais de solo, multiplicar-se e sobreviver por diversas semanas na presença de competição com a microbiota nativa.

Assim, o momento da inoculação pode influenciar o estabelecimento de unidades formadoras de colônias bacterianas na rizosfera, a colonização e a competição com a microflora fitopatogênica e/ou autóctone (SIDDIQUI e MAHMOOD, 1999).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar épocas de aplicação de isolados bacterianos no controle de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 12 isolados de bactérias sendo quatro epifíticas de Nim: *Bacillus* sp. (E-07), *Bacillus pumilus* (E-09), *Bacillus* sp. (E-13), *Bacillus* sp. (E-14); duas de extrato fermentado de nim: *Methylobacterium* sp. (N-03), *Bacillus amyloliquefaciens* (N-13) e seis de rizosfera (R) obtidas de bananeira ‘Prata-Anã’ de plantios de Janaúba, norte de Minas Gerais: *Bacillus cereus* (R-18), *Bacillus subtilis* (R-34), *B. amyloliquefaciens* (R-41), *B. subtilis* (R-42), *Lysinibacillus sphaericus* (R-73), *Bacillus* sp. (R-76). Estes isolados foram previamente

selecionados com capacidade de redução no desenvolvimento de *foc* e de *M. javanica* em estudos *in vitro* previamente realizados (RIBEIRO *et al.*, 2012).

Para realização dos testes, os isolados bacterianos foram cultivados em placas de Petri contendo meio Trypic Soy Agar (TSA) e incubadas a 28 °C, por 48 horas. Após este período, em câmara de fluxo as células bacterianas foram suspensas em solução salina estéril (NaCl) a 0,85%, com auxílio de alça de Drigalski. A suspensão obtida foi agitada e calibrada em espectrofotômetro para densidade ótica $OD_{540} = 1,0$ de absorbância e concentração de 10^8 UFC/mL. Esta quantificação foi determinada pela contagem da concentração de bactérias, pelo método de diluição seriada. Para isso, diluições sucessivas até 10^{-9} foram feitas e alíquotas de 0,2 mL foram plaqueadas em placas de Petri contendo meio Trypic Soy Agar (TSA). Após 24 horas do plaqueamento, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônia (UFCs) (VIEIRA e NAHAS, 2005).

O inóculo de *foc* utilizado foi o isolado 106 da micoteca do laboratório de Fitopatologia do departamento de Ciências Agrárias da UNIMONTES, considerado o isolado mais agressivo à bananeira, dos presentes na micoteca. O isolado foi repicado em meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) e mantido a 25 °C em incubadora BOD no escuro por sete dias. Após esse período, adicionou-se 40 mL de água destilada e esterilizada às placas de Petri e, com o auxílio de um pincel, os conídios foram desagregados. A suspensão foi filtrada em uma gaze esterilizada e a concentração de esporos calibrada em hemacitômetro para 5×10^6 esporos/mL.

O inóculo de *M. javanica* foi obtido de uma população pura, mantida em tomateiros cultivar Kada, em vasos contendo solo arenoso previamente autoclavado 121°C/50 minutos por três dias consecutivos. Os ovos de *M. javanica* foram extraídos das raízes de tomateiros, conforme a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981) e calibrados em microscópio de objetiva invertida para 3.000 ovos/mL.

Os experimentos para as avaliações de eficiência dos agentes de biocontrole no manejo de *foc* e de *M. javanica* foram realizados em dois ensaios separadamente.

Biocontrole de *foc* por bactérias aplicadas durante a aclimação e após o plantio de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’.

O experimento foi instalado em casa de vegetação do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, em esquema fatorial $2 \times 12 + 3$ sendo: duas épocas de aplicação dos agentes de biocontrole: durante o período de aclimação

(Época 1) e após plantio em vasos (Época 2), 12 isolados bacterianos e três tratamentos adicionais: 1) mudas inoculadas com *foc*; 2) mudas inoculadas com *foc* + produto biológico comercial a base de *Trichoderma asperellum* e 3) testemunha absoluta sem inoculação de *foc* e agentes bacterianos.

Considerou-se como Época 1, a aplicação das bactérias ao substrato no entorno das mudas três vezes durante a aclimação das mudas e Época 2, a aplicação das bactérias ao solo no entorno das mudas após a fase de aclimação em vasos, três vezes durante a condução das plantas em casa de vegetação.

Mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ após a fase de enraizamento *in vitro*, quando apresentavam pelo menos três folhas lançadas, foram plantadas em tubetes contendo substrato de enraizamento Bioplant®. As mudas permaneceram em tubetes por 15 dias em estufa de aclimação. Após esse período, foram transferidas para sacos plásticos (8x15cm) com capacidade de 0,5 litros, contendo o mesmo substrato de enraizamento Bioplant®, onde permaneceram por mais 15 dias. Aos 30 dias de aclimação, um volume de 10 mL das suspensões bacterianas dos isolados avaliados foi aplicado ao substrato na base do pseudocaule. Os controles receberam uma solução de 10 mL de água esterilizada. Foram realizadas três aplicações no período de 30 dias, a intervalos de 15 dias. As aplicações realizadas em estufa de aclimação foram consideradas como Época 1.

Aos 60 dias, após a fase de aclimação, as mudas foram transplantadas para vasos de 3,0 litros de capacidade contendo solo arenoso Neossolo fúlvico (argila: 5 dag/kg, areia: 84,5 dag/kg, silte: 10,5 dag/kg, pH: 6,4), previamente autoclavado a 121°C/60 min durante três dias consecutivos.

Uma semana após o transplantio das mudas, aplicou-se 50 mL da suspensão de esporos de *foc* (isolado 106) na concentração de 5×10^6 esporos/mL no solo em torno do pseudocaule das mudas. Aos sete dias da inoculação do *foc*, aplicou-se a suspensão das bactérias testadas conforme descrito anteriormente. Foram realizadas três aplicações no período de 104 dias, em intervalos de 30 dias. As aplicações ao solo nos vasos foram consideradas como Época 2.

Para o tratamento adicional com inoculação do produto biológico comercial a base de *T. asperellum*, cada planta recebeu 0,05 g do produto comercial diluído em 250 mL de água. A testemunha absoluta recebeu uma solução de 10 mL de água estéril.

As plantas foram adubadas conforme recomendação (100 mg de P_2O_5 , 180 mg de $Ca(NO_3)_2$ e 150 mg de K_2SO_4), sendo o fósforo em uma única aplicação e o N e K parcelados em três vezes. Todas as adubações foram realizadas nos horários de temperaturas mais

amenas do dia, no início da manhã. A irrigação foi realizada manualmente, mantendo o solo constantemente úmido.

Para estimar a severidade da murcha de *Fusarium*, realizou-se um corte transversal na inserção do pseudocaule no rizoma atribuindo notas de 1 a 6, de forma que as notas representassem: 1= tecido vascular completamente claro, sem descoloração vascular; 2= pontos isolados de descoloração no tecido vascular; 3= descoloração em 1/3 do tecido vascular; 4= descoloração entre 1/3 e 2/3 do tecido vascular; 5= descoloração maior que 2/3 do tecido vascular; 6= descoloração total do tecido vascular, conforme a escala de avaliação de sintomas International Network for the Improvement of Banana and Plantain - INIBAP (CARLIER *et al.*, 2003). Após a obtenção das notas foi calculado o índice de gravidade da doença (IGD), através da seguinte equação:

$$\text{IGD: } \frac{\Sigma (\text{Nota na escala} \times \text{N}^\circ \text{ de mudas que receberam nota correspondente})}{\Sigma (\text{N}^\circ \text{ de mudas no tratamento})}$$

Foram realizados cortes longitudinais no pseudocaule para verificação da presença de sintomas, e medição do comprimento da lesão.

Biocontrole de *M. javanica* por bactérias na aclimação e após o plantio em vasos em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’.

O experimento foi instalado em casa de vegetação do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES, em esquema fatorial de 2 x 12 + 3 sendo: duas épocas de aplicação do agente de biocontrole: durante o período de aclimação (Época 1) e após plantio em vasos (Época 2), 12 isolados bacterianos e três tratamentos adicionais: 1) mudas inoculadas com *M. javanica*; 2) mudas inoculadas *M. javanica* + produto biológico comercial a base de *Bacillus metlylotrophicus* e 3) testemunha absoluta sem inoculação de nematoides e isolados bacterianos.

Considerou-se como Época 1, a aplicação das bactérias ao substrato no entorno das mudas três vezes durante a aclimação das mudas e Época 2, a aplicação das bactérias ao solo no entorno das mudas após a fase de aclimação em vasos, três vezes durante a condução das plantas em casa de vegetação.

Mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ após a fase de enraizamento *in vitro*, quando apresentavam pelo menos três folhas lançadas, foram plantadas em tubetes

contendo substrato de enraizamento Bioplant[®]. As mudas permaneceram em tubetes por 15 dias em estufa de aclimação. Após esse período, foram transferidas para sacos plásticos (8x15cm) com capacidade de 0,5 litros, contendo o mesmo substrato de enraizamento Bioplant[®], onde permaneceram por mais 15 dias. Aos 30 dias de aclimação, um volume de 10 mL das suspensões bacterianas dos isolados avaliados foi aplicado ao substrato na base do pseudocaule. Os controles receberam uma solução de 10 mL de água esterilizada. Foram realizadas três aplicações no período de 30 dias, a intervalos de 15 dias. As aplicações realizadas em estufa de aclimação foram consideradas como Época 1.

Aos 60 dias, após a fase de aclimação, as mudas foram transplantadas para vasos de 3,0 litros de capacidade contendo solo arenoso Neossolo fúlvico (argila: 5 dag/kg, areia: 84,5 dag/kg, silte: 10,5 dag/kg, pH: 6,4), previamente autoclavado a 121°C/60 min durante três dias consecutivos.

Uma semana após o transplante das mudas, aplicou-se um volume de 5 mL de suspensão aquosa contendo 3.000 ovos de *M. javanica* aplicados em três orifícios ao solo ao redor da planta. Aos sete dias da inoculação do nematoide, aplicou-se a suspensão das bactérias testadas conforme descrito anteriormente. Foram realizadas três aplicações no período de 104 dias, em intervalos de 30 dias. As aplicações ao solo nos vasos foram consideradas como Época 2.

Para o tratamento adicional com inoculação do produto biológico comercial a base de *B. metlylotrophicus*, cada planta recebeu 0,05 g do produto comercial diluído em 250 mL de água. A testemunha absoluta recebeu uma solução de 40 mL de água estéril.

As plantas foram adubadas conforme recomendação para vaso (100 mg de P₂O₅, 180 mg de Ca(NO₃)₂ e 150 mg de K₂SO₄), sendo o fósforo em uma única aplicação e o N e K parcelados em três vezes. Todas as adubações foram realizadas nos horários de temperaturas mais amenas, no início da manhã. A irrigação foi realizada manualmente, mantendo o solo constantemente úmido.

Para a avaliação do efeito dos isolados bacterianos na bioproteção de *M. javanica*, foram avaliadas: 1) número de galhas por sistema radicular, 2) número de massas de ovos e número de ovos por sistema radicular, 3) número de juvenis de segundo estágio (J2) por 200cm³ de solo, extraídos de acordo com a técnica de Jenkins (1964), e 4) fator de reprodução (FR) obtido por meio da fórmula $FR = Pf / Pi$, onde Pf é o número de ovos aos 90 dias e Pi o número de ovos utilizados na infestação do solo.

Análises estatísticas

Ambos os experimentos foram montados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete repetições e cada repetição foi constituída de um vaso com uma planta de bananeira. Os resultados do ensaio fatorial foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott (1974) a 5%. As médias dos tratamentos pareados foram comparadas aos tratamentos controles pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software estatístico R, versão 3.2.4. (R CORE TEAM, 2016).

RESULTADOS

Biocontrole de *foc* por bactérias aplicadas na aclimação e após o plantio de mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’.

A severidade da doença avaliada pela porcentagem de descoloração do rizoma por meio da escala de notas de Carlier *et al.* (2003), não foi afetada pela época de aplicação dos isolados bacterianos e também não houve interação significativa entre os dois fatores (Tabela 1).

Para a variável comprimento de lesão do pseudocaule observou-se interação significativa entre os métodos de inoculação e os isolados bacterianos ($p < 0,05$). Os isolados apresentaram desempenho variável de acordo com a época de inoculação (Tabela 1). Os isolados que proporcionaram maior redução durante a aclimação foram os isolados *Methylobacterium* sp (N-03) e *B. amyloliquefaciens* (N-13), já após o plantio, os isolados que se destacaram foram os isolados *B. cereus* (R-18), *B. subtilis* (R-34), *B. amyloliquefaciens* (R-41), *Bacillus* sp. (R-76), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) e *Bacillus* sp. (E-14).

TABELA 1. Média de severidade da murcha de *Fusarium* de acordo com a escala de Carlier e comprimento de lesão no pseudocaule de mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ tratadas com isolados de bactérias na fase de aclimação (Época 1) e na condução da muda após o plantio em vasos (Época 2).

ISOLADOS	Severidade		Comprimento de lesão (cm)	
	Aclimação	Plantio	Aclimação	Plantio
<i>B. cereus</i> (R-18)	3,40 aA	3,60 aA	15,20 bA	11,20 aA
<i>B. subtilis</i> (R-34)	2,80 aA ^x	2,20 aA ^{xy}	30,00 cB	17,20 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> (R-41)	3,00 aA ^x	3,00 aA ^x	10,80 bA	15,60 aA
<i>B. subtilis</i> (R-42)	2,60 aA ^x	3,00 aA ^x	24,40 cB	23,60 bA
<i>L. sphaericus</i> (R-73)	3,40 aA	3,20 aA ^x	18,40 cA	21,40 bB
<i>Bacillus</i> sp. (R-76)	2,00 aA ^{xy}	2,60 aA ^x	15,80 bA	15,80 aA
<i>Bacillus</i> sp. (E-07)	2,80 aA ^x	2,00 aA ^{xy}	10,80 bA	4,60 aA ^x
<i>B. pumilus</i> (E-09)	2,40 aA ^{xy}	2,00 aA ^{xy}	23,00 cB	14,00 aA
<i>Bacillus</i> sp. (E-13)	2,80 aA ^x	2,00 aA ^{xy}	19,20 cA	11,00 aA
<i>Bacillus</i> sp. (E-14)	2,80 aA ^x	2,80 aA ^x	10,20 bA	14,90 aA
<i>Methylobacterium</i> sp. (N-03)	2,40 aA ^{xy}	4,00 aA	1,10 aA ^x	26,70 bB
<i>B. amyloliquefaciens</i> (N-13)	2,40 aA ^{xy}	3,80 aA	8,00 aA	22,40 bB
<i>Foc</i>		5,80		19,40
<i>T. asperellum</i>		2,60		15,40
Média		2,80		16,08
CV(%)		42,94		40,88

Notas do INIBAP.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade.

^x Significativo pelo teste Dunnett a 5 % de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *foc* sem bactéria.

^y Significativo pelo teste Dunnett a 5 % de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *foc* + produto biológico comercial a base de *T. asperellum*.

Quando comparados pelo teste de Dunnett, 10 isolados foram significativamente diferentes da testemunha *foc* na variável severidade, demonstrando efeito das bactérias sobre o desenvolvimento da doença. Apenas os isolado *B. cereus* (R-18) e *L. sphaericus* (R-73) quando inoculados no período de aclimação, e os isolados *B. cereus* (R-18), *Methylobacterium* sp. (N-03) e *B. amyloliquefaciens* (N-13) inoculadas após o plantio não apresentaram efeito significativo para essa variável (Tabela 1).

Observou-se uma amplitude das notas, quando comparadas em relação à eficiência dos isolados para severidade da doença. As notas variaram de 2,00 a 3,20 correspondendo, respectivamente, a pontos isolados de descoloração no tecido vascular até 33,00 % de descoloração.

O isolado *Bacillus* sp. (R-76) inoculado na aclimação e os isolados *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) inoculados após o plantio em vasos, apresentaram redução de 65,52 % da severidade da murcha de *Fusarium* em relação à testemunha *foc*.

Quando comparados pelo teste de Dunnett em relação à testemunha *foc*, o isolado *Methylobacterium* sp. (N-03) apresentou uma redução no comprimento da lesão do pseudocaule de 92,90 % quando aplicada no período de aclimação (Época 1), enquanto que o isolado *Bacillus* sp. (E-07) a redução foi de 70,10 % quando inoculados após o plantio em vasos (Época 2) (Tabela 1).

Quando comparados com a testemunha, produto comercial à base de *T. asperellum*, os isolados *Bacillus* sp. (R-76), *B. pumilus* (E-09), *Methylobacterium* sp. (N-03) e *B. amyloliquefaciens* (N-13) aplicados no período de aclimação, e os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) aplicados após o plantio das mudas em vasos apresentaram redução da severidade da murcha de *Fusarium*, variando de 7,60 a 23,00 % (Tabela 2).

A porcentagem de inibição, calculada de acordo com o índice de gravidade da doença (IGD), demonstrou uma redução de aproximadamente 60,00 % da murcha de *Fusarium* para quatro isolados testados após plantio *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) (Figura 2).

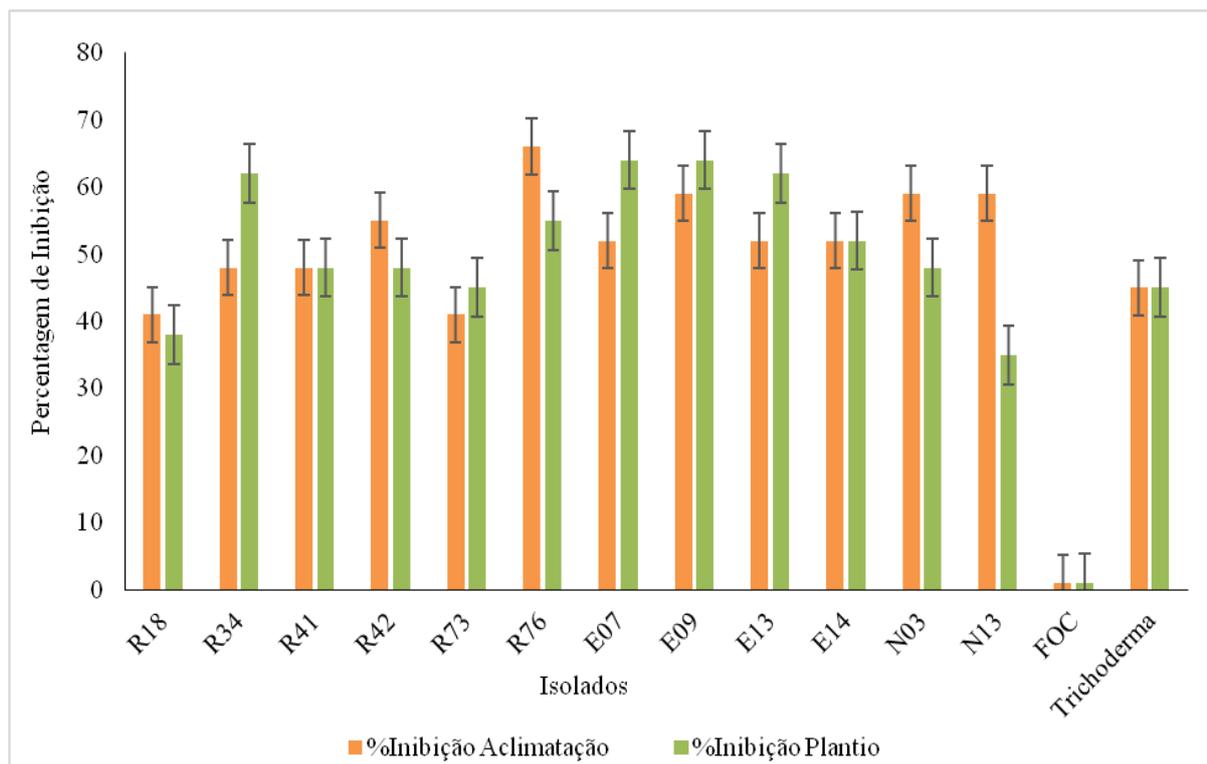


FIGURA 2. Percentagem de inibição de murcha de *Fusarium* em mudas de bananeira variedade Prata- Anã tratadas com isolados bacterianos na aclimação (Época 1) e após o plantio (Época 2).

Biocontrole de *M. javanica* em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ por bactérias na aclimação e após o plantio em vasos de mudas micropropagadas.

Por meio da análise de variância, observou-se interação significativa entre as épocas de inoculação e os isolados bacterianos para as variáveis número de galhas e número de massas de ovos ($p < 0,05$).

Na aclimação, as maiores reduções do número de galhas foram observados com a aplicação dos isolados *Bacillus* sp. (E-14), *Methylobacterium* sp. (N-03) e *B. amyloliquefaciens* (N-13) (Tabela 2).

Maiores reduções no número de galhas foram proporcionadas por *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76) e *B. pumilus* (E-09), quando inoculados após o plantio em vasos (Tabela 2).

TABELA 2. Valores médios do número de galhas e massas de ovos de *Meloidogyne javanica* por raiz de bananeira ‘Prata-Anã’, após o biocontrole por isolados bacterianos na fase de aclimação das mudas e após o plantio.

ISOLADOS	Número de galhas		Massa de ovos	
	Aclimação	Plantio	Aclimação	Plantio
<i>B. cereus</i> (R-18)	25,71 aA ^x	43,42 bB	51,71 aA ^x	97,14 aB ^y
<i>B. subtilis</i> (R-34)	54,57 bB	7,85 aA ^{xy}	92,71 bB ^y	25,00 aA ^x
<i>B. amyloliquefaciens</i> (R-41)	58,28 bB	28,14 bA	53,14 aA ^x	64,71 aA
<i>B. subtilis</i> (R-42)	50,28 bA	42,00 bA	49,85 aA ^x	66,42 aA
<i>L. sphaericus</i> (R-73)	42,71 bA	36,42 bA	31,57 aA ^x	59,00 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (R-76)	38,42 aB	10,85 aA ^{xy}	34,28 aA ^x	39,14 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-07)	27,71 aA	39,00 bA	44,00 aA ^x	70,28 aA
<i>Bacillus pumilus</i> (E-09)	34,57 aB	14,85 aA ^x	24,57 aA ^x	59,42 aB ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-13)	35,28 aA	38,42 bA	61,57 aA ^x	62,71 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-14)	19,85 aA ^x	24,28 aA ^x	33,00 aA ^x	54,00 aA ^x
<i>Methylobacterium</i> sp. (N-03)	22,14 aA ^x	23,00 aA ^x	33,42 aA ^x	44,00 aA ^x
<i>B. amyloliquefaciens</i> (N-13)	29,00 aA	37,28 bA	37,42 aA	65,57 aA
<i>M. javanica</i>	54,28		135,14	
<i>B. metlylotrophicus</i>	36,28		39,85	
Média	32,6		52,0	
CV(%)	49,0		60,0	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

^x Significativo pelo teste Dunnett a 5 % de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *M. javanica* sem bactéria.

^y Significativo pelo teste Dunnett a 5 % de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *M. javanica* + produto biológico comercial a base de *B. metlylotrophicus*.

Quando comparado pelo teste de Dunnett, os isolados *B. cereus* (R-18), *Bacillus* sp. (E-14) e *Methylobacterium* sp. (N-03) inoculados durante a aclimação, apresentaram redução no número de galhas de 52,64%, 63,44 % e 59,22%, respectivamente, em relação à testemunha *M. javanica*. Os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76), *B. pumilus* (E-09), *Bacillus* sp. (E-14) e *Methylobacterium* sp. (N-03) aplicados após o plantio apresentaram redução de 85,50%, 80,00%, 72,65%, 55,27% e 57,63%, respectivamente, em relação à testemunha *M. javanica* (Tabela 2).

Quando comparados ao produto comercial à base de *B. metlylotrophicus*, os isolados *B. subtilis* (R-34) e *Bacillus* sp. (R-76) inoculados após o plantio em vasos, reduziram o número de galhas em 78,30% e 70,10%, respectivamente, portanto, apresentando efeito superior ao produto comercial testado.

Em relação ao número de massas de ovos, os isolados *B. pumilus* (E-09) e *B. subtilis* (R-34) apresentaram reduções do número de massas de ovos quando aplicados na aclimação e após o plantio, respectivamente (Tabela 2).

Quando comparado pelo teste de Dunnett, o isolado *B. pumilus* (E-09) apresentou uma redução de 81,80 % no número de massas de ovos quando aplicados na aclimação e o isolado *B. subtilis* (R-34) reduziu em 81,49 % quando inoculados após o plantio em vasos em relação à testemunha *M. javanica* (Tabela 2).

Na avaliação do número de J2/100 cm³ de solo, houve interação significativa entre os fatores avaliados ($p < 0,05$). Fixando-se as bactérias observa-se que os isolados *B. cereus* (R-18), *B. amyloliquefaciens* (R-41), *Bacillus* sp. (E-13), *Bacillus* sp. (E-14) reduziram o número de J2 de *M. javanica* quando inoculados durante a aclimação. Já o isolado *B. pumillus* (E-09) reduziu a população de J2 quando inoculados em vaso. Para as demais bactérias não houve diferença significativa entre as épocas de aplicação (Tabela 3).

Fixando-se as épocas de inoculação, verifica-se que não houve diferença significativa entre os isolados quando inoculados na aclimação, para o número de J2. Já na inoculação após o plantio, cinco isolados bacterianos promoveram redução no número de J2 (Tabela 3).

TABELA 3. Valores médios do número de juvenis de segundo estágio (J2) e número de ovos/raiz de *Meloidogyne javanica* pelo sistema radicular de bananeira ‘Prata-Anã’, após a inoculação dos isolados bacterianos em mudas na fase de aclimação (Época 1) e após o plantio (Época 2).

ISOLADOS	J2/100 cm ³ de solo		Número de ovos/raiz	
	Aclimação	Plantio	Aclimação	Plantio
<i>B. cereus</i> (R-18)	1758,00 aA ^x	3716,85 bB	9508,00 bA ^x	8606,00 bA ^x
<i>B. subtilis</i> (R-34)	1576,71 aA ^x	1938,85 aA ^x	4868,57 aA ^x	6389,42 aA ^x
<i>B. amyloliquefaciens</i> (R-41)	1986,00 aA ^x	3680,28 bB	6708,00 bA ^x	9856,71 bA ^x
<i>B. subtilis</i> (R-42)	1305,14 aA ^x	2781,42 bA ^x	3548,14 aA ^x	6601,71 aA ^x
<i>L. sphaericus</i> (R-73)	2744,57 aA ^x	2207,71 aA ^x	6642,28 bA ^x	7046,42 bA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (R-76)	1669,00 aA ^x	1474,14 aA ^x	5133,42 aA ^x	4917,42 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-07)	1474,14 aA ^x	2934,00 bA ^x	5122,42 aA ^x	11687,42 bA ^{xy}
<i>B. pumilus</i> (E-09)	3476,85 aB ^x	1539,85 aA ^x	2442,00 aA ^x	2969,00 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-13)	1527,28 aA ^x	3334,71 bB	4066,57 aA ^x	11899,85 bA ^{xy}
<i>Bacillus</i> sp. (E-14)	2392,71 aA ^x	3270,00 bB	6200,28 bA ^x	8588,57 bA ^x
<i>Methylobacterium</i> sp. (N-03)	1198,14 aA ^x	2593,14 aA ^x	4619,85 aA ^x	7856,28 aA ^x
<i>B. amyloliquefaciens</i> (N-13)	1494,57 aA ^x	4151,14 bB	5547,00 bA ^x	8117,00 bA ^x
<i>M. javanica</i>		5548,57		21221,85
<i>B. metlylotrophicus</i>		3012,57		4804,42
Média		2340,76		6622,6
CV(%)		65,02		57,39

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade.

^x Significativo pelo teste Dunnett a 5 % de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *M. javanica* sem bactéria.

^y Significativo pelo teste Dunnett a 5 % de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *M. javanica* + produto biológico comercial *B. metlylotrophicus*.

Quando se compara os isolados com a testemunha *M. javanica* pelo teste de Dunnett, observa-se que todos os isolados reduziram o número de J2/100 cm³ de solo. As maiores reduções do número de J2/100 cm³ de solo, foram observadas com a inoculação do isolado *Methylobacterium* sp. (N-03), com redução de 78,40 % quando inoculado na aclimação, já o isolado *Bacillus* sp. (R-76) reduziu em 73,40 % quando aplicado após o plantio em vasos (Tabela 3).

Para a variável número de ovos/raiz, observou-se efeito significativo apenas entre os isolados bacterianos. Todos os isolados apresentaram redução significativa quando comparada com a testemunha *M. javanica* (Tabela 3).

Considerando a capacidade reprodutiva de *M. javanica* representada pelo fator de reprodução (FR), não houve interação significativa entre os dois fatores analisados (Tabela 4).

Quando comparado pelo teste de Dunnett, todos os isolados reduziram a reprodução do nematoide. O isolado *B. pumillus* (E-09) quando aplicado na aclimação, reduziu o fator de reprodução em 88,55% em relação à testemunha *M. javanica*. Quando comparadas com o produto biológico à base de *B. metlylotrophicus*, todos isolados bacterianos na aclimação tiveram efeito semelhante ao produto comercial, já na época 2, com exceção dos isolados *Bacillus* sp. (E-07) e *Bacillus* sp. (E-13) que promoveram aumento na população do patógeno, todos os demais também tiveram comportamento semelhante ao produto comercial.

TABELA 4. Fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* em bananeira ‘Prata-Anã’, após inoculação de isolados bacterianos na fase de aclimação (Época 1) e após o plantio (Época 2).

ISOLADOS	Fator reprodução (RF)	
	Aclimação	Plantio
<i>B. cereus</i> (R-18)	3,17 bA ^x	2,86 bA ^x
<i>B. subtilis</i> (R-34)	1,62 aA ^x	2,12 aA ^x
<i>B. amyloliquefaciens</i> (R-41)	2,23 bA ^x	3,28 bA ^x
<i>B. subtilis</i> (R-42)	1,18 aA ^x	2,20 aA ^x
<i>L. sphaericus</i> (R-73)	2,21 bA ^x	2,34 bA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (R-76)	1,71 aA ^x	1,63 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-07)	1,70 bA ^x	3,89bA ^{xy}
<i>B. pumilus</i> (E-09)	0,81 aA ^x	0,99 aA ^x
<i>Bacillus</i> sp. (E-13)	1,35 bA ^x	3,96bA ^{xy}
<i>Bacillus</i> sp. (E-14)	2,06 bA ^x	2,86 bA ^x
<i>Methylobacterium</i> sp. (N-03)	1,53 bA ^x	2,61 bA ^x
<i>B. amyloliquefaciens</i> (N-13)	1,84 bA ^x	2,70 bA ^x
<i>M. javanica</i>		7,07
<i>B. metlylotrophicus</i>		1,60
Média		2,20
CV(%)		57,39

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

^x Significativo pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *M. javanica* sem bactéria.

^y Significativo pelo teste Dunnett a 5% de probabilidade para a testemunha mudas inoculadas com *M. javanica* + produto biológico comercial a base de *B. metlylotrophicus*

DISCUSSÃO

A avaliação do índice de doença da murcha de *Fusarium* nas mudas de bananeira ‘Prata-Anã’, em função da inoculação das bactérias em duas épocas diferentes (aclimação e

após o plantio), mostrou que os isolados bacterianos foram eficientes na redução da doença, em ambas as épocas de inoculação, com eficiência variando de acordo com o isolado utilizado, resultando em reduções de até 60,00% na severidade da doença.

Entretanto, não houve efeito das épocas de inoculação para severidade da doença. Na aclimatação eram esperados resultados mais satisfatórios, uma vez que os isolados foram inoculados no momento que as raízes se encontravam em intenso crescimento e liberação de exsudatos o que poderia incrementar a sinalização e estímulo para o crescimento bacteriano (COELHO *et al.*, 2007) e maior tempo de contato das células bacterianas com as raízes.

Alguns estudos relatam a eficiência da aplicação de bactérias endofíticas em bananeiras durante a fase de aclimatação das mudas no controle de *Fusarium* (JIE *et al.*, 2009; HO *et al.*, 2015). Thangavelu e Gopi (2015) utilizaram isolados de *Bacillus* sp. e *Pseudomonas putida* em bananeiras infectadas por *foc* e observaram redução de 80 % da marcha de *Fusarium*, em experimentos em vasos e no campo.

Para que haja eficiência do agente de biocontrole, o momento da aplicação é um componente muito importante na estratégia da sua utilização. A aplicação das bactérias com potencial biotecnológico na fase de aclimatação, fase crucial no processo de produção de mudas micropropagadas, tem garantido maior tempo de contato das raízes com as células bacterianas. Entretanto, de acordo com os nossos resultados, infere-se que a característica mais importante para esses agentes de biocontrole é a sua capacidade de colonização bem-sucedida na rizosfera e dos tecidos vegetais, permitindo aumento do número de células aderidas às raízes e, conseqüentemente, garantindo maior produção de antibióticos e metabólitos contra patógenos, principalmente os de solo (LOPES *et al.*, 2018).

Na inoculação das bactérias após o plantio em vasos (Época 2), os isolados foram inoculados quando o solo se encontrava infestado com *foc*. Foi possível observar que mesmo com a presença do fungo alguns gêneros foram eficientes e promoveram a redução da severidade da doença. Provavelmente os isolados atrasaram o processo de infecção por *foc*, demonstrando efeito na redução da doença. Uma das hipóteses para esse resultado pode estar associado à capacidade das bactérias do gênero *Bacillus* de interagir diminuindo a severidade dos sintomas da doença nas plantas, seja pelas ações antagônicas (HUANG *et al.*, 2007) ou pela indução de mecanismos de resistência na planta (MARTINS *et al.*, 2013).

A supressão de uma doença mediada por agentes de biocontrole e o êxito do controlador é a consequência das interações entre plantas, agentes patogênicos e a comunidade microbiana presente no ecossistema. Deste modo, compreender as relações entre

organismos é fundamental para a manutenção do equilíbrio natural das populações e dos ciclos biológicos (SCHAFER e KOTANEN, 2003).

Em adição a habilidade de espécies de *Bacillus* em promover o crescimento de plantas, disponibilizar nutrientes como fósforo e ferro (GHOSH *et al.*, 2015; KUMAR *et al.*, 2015) e oferecer proteção contra fitopatógenos, também pode ser atribuída à capacidade em induzir resistência sistêmica e localizada. Neste caso, os agentes de biocontrole estimulariam os mecanismos de autodefesa do vegetal, com respostas à presença do antagonista resultando em mecanismos de resistência induzida a patógenos (SIDDIQUI e MAHMOOD, 1999; TIAN *et al.*, 2007).

Apesar da variação dos efeitos dos isolados, de forma geral os isolados quando aplicados após o plantio foram mais eficientes na redução do índice de gravidade da doença. Estes dados são evidenciados quando se analisa os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (R-76), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13), na Figura 2.

Quase todos os isolados foram eficientes em reduzir a severidade da doença quando comparados à testemunha *foc*. Provavelmente, devido à maioria serem pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Methylobacterium* sp, corroborando com o que já está descrito na literatura, como eficientes antagonistas da murcha de *Fusarium* (RIBEIRO *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2014).

Os mecanismos pelos quais os isolados de *Bacillus* sp. podem ter inibido o crescimento de *foc*, provavelmente, se deve ao fato de que espécies de *Bacillus* apresentam a capacidade de sintetizar metabólitos antifúngicos, entre os quais se encontram lipopeptídicos das famílias da surfactina, iturina e fengicina (ARIZA e SANCHEZ, 2012). Estes metabólitos atuam na superfície das hifas, induzindo a lise e extravasamento do conteúdo citoplasmático, o que ocasiona a morte celular (ZHAO *et al.*, 2014; JUNIOR *et al.*, 2017).

Ainda, são capazes de produzir enzimas líticas β -1,3- glucanase, protease e quitinase. A secreção de enzimas degradadoras da parede celular por espécies de *Bacillus* estão inter-relacionadas à sua inibição do crescimento fúngico. Estas enzimas desempenham um papel vital na lise da parede celular fúngica que é constituída de β -glucano e quitina (ASHWINI e SRIVIDYA, 2014). Além disso, apresentam a capacidade de formação de biofilme que auxilia na colonização das raízes, agindo como um obstáculo, defendendo as plantas da penetração de patógenos transmitidos pelo solo (JANGIR *et al.*, 2018).

Ao avaliar o efeito das épocas de inoculação sobre as variáveis nematológicas, observou-se efeito significativo entre as épocas de inoculação e isolados bacterianos, para as variáveis número de galhas, massa de ovos e número de J2/100 cm³ de solo.

A redução do número de galhas observada após o plantio das mudas em vasos (Época 2), confirma o potencial dos isolados testados no controle de nematoides, uma vez que estes foram inoculados após a inoculação do nematoide. Isto pode ser atribuído, ao fato de as bactérias atuarem interferindo no reconhecimento do hospedeiro, atrasando o processo de infecção pelo nematoide (KAVITHA *et al.*, 2007).

As maiores reduções do número de J2/100 cm³, foram observadas com a inoculação do isolado *Methylobacterium sp.* (N-03) na aclimação, e do isolado *Bacillus sp.* (R-76) após o plantio em vasos. Independente da época de inoculação os isolados bacterianos apresentaram efeito na reprodução do nematoide. Alguns gêneros de bactérias possuem a capacidade de interferir no processo de interação nematoide e planta hospedeira. Desta maneira afetam o desenvolvimento dos estádios do ciclo de vida do nematoide e como resultado final pode ser observado o controle do patógeno (LUDWIG *et al.*, 2013).

De acordo com a literatura, há respostas variáveis no controle de *M. javanica* entre isolados do mesmo gênero, por serem oriundas de patossistemas diferentes. Alguns estudos alcançaram reduções de até 90% na população dos nematoides, enquanto outros, com o mesmo antagonista, não apresentaram eficiência dos tratamentos. Este fato pode ser explicado pela ocorrência de variabilidade intraespecífica, onde os microrganismos agem de forma diferente em cada local e hospedeiro, podendo também diferir nas suas habilidades de estabelecimento (RODRIGUEZ-KABANA *et al.*, 1987).

O isolado *B. pumillus* (E-09), quando aplicado na aclimação, reduziu o fator de reprodução do *M. javanica* em 88,55% em relação à testemunha *M. javanica*. Redução do número de galhas e de juvenis por espécies de *Bacillus* tem sido observada por vários autores (ARAÚJO e MARCHESI, 2009; ABO- ELYOUR *et al.*, 2010). O controle de fitonematoides pode ocorrer em função da produção de antibióticos, toxinas, inibição do processo de reconhecimento entre planta e patógeno e indução de resistência sistêmica (SIDDIQUI e SHAKAUT, 2004).

Para as variáveis nematológicas, em geral, os isolados do gênero *Bacillus* apresentaram maior eficiência. De acordo com estudos o gênero apresenta a capacidade de atuar no ciclo de vida do nematoide através da produção de metabolitos tóxicos que restringem sua mobilidade, impedem a eclosão e penetração do juvenil nas raízes das plantas (KAVITHA *et al.*, 2007). Ademais, os exsudatos radiculares das mudas de bananeira estimulam o crescimento bacteriano, o que não exclui, ainda assim, a hipótese de que esses isolados foram favorecidos pela rizosfera das mudas, devido à especificidade, já que foram

isolados de rizosfera de bananeira ‘Prata-Anã’ de plantios de Janaúba, norte de Minas Gerais (RIBEIRO *et al.*, 2012).

Silva (2018), em estudos anteriores, verificou que os isolados *B. subtilis* (R-34), *B. amyloliquefaciens* (R-41) e *B. subtilis* (R-42) testados no presente trabalho, são produtoras de lipase, enzima que atua no controle de patógenos, principalmente de nematoides, por degradarem os lipídios de membrana e afetar suas reservas energéticas (ABALLAY *et al.*, 2017).

Na cultura da bananeira, foi comprovada a redução das populações de *Meloidogyne* sp., *H. multicinctus*, *R. similis* e *P. coffeae* por microorganismos antagonistas, incluindo *B. subtilis* aplicado no solo em áreas de cultivo comercial (GUIMARÃES, 2011). Lopes *et al.* (2018) verificaram redução na reprodução de *M. javanica*, em mudas micropropagadas, quando imersas em suspensão de células de *Bacillus* sp. Ribeiro *et al.* (2012) também constataram a eficiência de *B. subtilis* em mudas micropropagadas e inoculadas com *M. javanica*.

De acordo com a literatura, o momento da aplicação dos microrganismos antagonistas pode influenciar na sua eficiência, pois necessitam de um período para a colonização na raiz. Segundo Silveira e Freitas (2007), os microorganismos devem ser acrescentados ao solo o mais cedo possível, pois a dinâmica do ecossistema que eles tentam invadir pode dificultar seu estabelecimento.

Segundo Weller (1988), para que uma bactéria seja colonizadora eficiente, ela, quando introduzida, deve ser capaz de se espalhar ao longo da raiz em condições naturais de solo, multiplicar-se e sobreviver por diversas semanas na presença de competição com a microbiota nativa.

Em condições de cultivo *in vivo*, existe uma série de fatores que podem influenciar diretamente no estabelecimento e atuação dos agentes de biocontrole. Variações nas condições de cultivo como o tipo de substrato, solo, temperatura, irrigação, além da própria planta, podem favorecer ou minimizar a ação das bactérias sobre fitopatógenos, proporcionando ou não um melhor desenvolvimento da planta.

O controle de várias espécies de *Meloidogyne* com diferentes espécies de bactérias tem sido relatado por vários autores (DAWAR *et al.*, 2008, LEE e KIM, 2015; CHINEYE *et al.*, 2017). Esse controle pode ser explicado pela ação direta dessas bactérias sobre a população de nematoides através da produção de antibióticos e metabólitos tóxicos, ou pela ação indireta, através da modificação de exsudatos radiculares, afetando o desenvolvimento de cada estágio do ciclo de vida do nematoide (LUDWIG *et al.*, 2013).

Em trabalho realizado por Ann (2013), caracterizando os mecanismos antagônicos de espécies de *Bacillus*, esse autor verificou que a atividade nematocida apresentada pelas cepas de *Bacillus* está relacionada com sua atividade proteolítica responsável pela penetração das bactérias no nematoide.

Desta forma, o uso de bactérias principalmente do gênero *Bacillus*, apresenta potencial biotecnológico para a agricultura, especialmente para a cultura da banana. No entanto, algumas lacunas precisam ser preenchidas, relacionadas à planta, aos agentes de biocontrole, bem com a capacidade de colonização destes e aos mecanismos que envolvem suas interações com a planta e o patógeno.

CONCLUSÃO

As épocas de aplicação dos isolados bacterianos interferem no controle da murcha de *Fusarium* e *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’.

Os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) reduzem o índice de gravidade da doença quando aplicados após o plantio das mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ em vasos.

Os isolados *B. subtilis* (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp. (R-76) e *B. pumilus* (E-09) reduzem a capacidade reprodutiva de *M. javanica*, quando aplicados na aclimação e após o plantio de mudas de bananeira ‘Prata Anã’ em vasos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALLAY, E.; PRODAN, S.; ZAMORANO, A.; CASTANEDA-ALVAREZ, C. Nematicidal effect of rhizobacteria on plant-parasitic nematodes associated with vineyards. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 33, n. 7, p. 0, 2017.

ABO-ELYOUR, K. A.; KHAN, Z.; EL-MORSI AWARD, M.; ABED-EL-MONEIM, M. F. Evaluation of plant extracts and *Pseudomonas* spp. for control of rootknot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematropica* v.40, p.289-299, 2010.

ALLARD-MASSICOTTE, R.; TESSIER, L.; LÉCUYER, F.; VENKATACHALAM LAKSHMANAN, V.; LUCIER, J. F.; GARNEAU, D.; CAUDWELL, L.; VLAMAKIS, H.; BAIS, H. P.; BEAUREGARDA, P. B. *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors. *MBIO*, v.7, n.6, e01664-16, 2016. DOI: 10.1128/mBio.01664-16.

ALMEIDA, N. O.; TEIXEIRA, R. A.; CARNEIRO, F. A.; OLIVEIRA, C. M.; RIBEIRO, V. A.; LOBO JÚNIOR, M.; ROCHA, M. R. Occurrence and correlations of nematodes, *Fusarium oxysporum* and edaphic factors on banana plantations. **Journal of Phytopathology**, v.166, n.4, p.1-8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12683>.

ANN, Y. C. Screening for nematicidal activities of *Bacillus* species against root knot nematode (*Meloidogyne incognita*). **American Journal of Experimental Agriculture**, v.3, n.4, p.794-805, 2013. DOI:10.9734/AJEA/2013/3690.

ARAÚJO, F.F.; MARCHESI, G.V.P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, 39: 1558-1561, 2009.

ARIZA, Y., SANCHEZ, L. Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* efecto biocontrolador sobre Fusarium sp. Nova - **Publicación Científica en Ciencias Biomédicas**, v. 10, n. 18, p. 135-250, 2012.

ASHWINI, N.; SRIVIDYA, S. Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1.3. **Biotech.** v. 4, n.2, p. 127-136, 2014.

BACK, M. A.; HAYDOCK, P. P. J.; JENKINSON, P. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. **Plant Pathology**, v. 51, p.683–697, 2002.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E.; PRABHU, S.R.; HERNANDEZ, J.P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.378, p.1-33, 2014.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B.; STADNIK, M. J.; KRAUS, U.; STEFANOVA, M.; PRADO, A. M. C. Controle biológico de doenças de plantas na América Latina. In: Alves, S. B.; Lopes, R. B. (Eds) Controle Microbiano de Pragas América Latina – Avanços e desafios. Piracicaba. FEALQ. p. 303-331, 2008.

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

CARDOSO, A. M. S.(2012) **Caracterização fisiológica de isolados bacterianos obtidos de *Azadirachta indica* e de bananeira ‘Prata Anã’**. Monografia apresentada ao curso de agronomia, da Universidade Estadual de Montes Claros, como exigência para obtenção do grau de bacharel em engenharia agrônoma. 57p.

CARRIER, J.; WAELE, D.; ESCALANT, J. 2003. Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to *Fusarium* wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes. INIBAP Technical Guidelines 7:27- 62.

CHINHEYA, C.C.; YOBO, K.S.; LAING, M.D. Biological control of the rootknot nematode, *Meloidogyne javanica* (Chitwood) using *Bacillus* isolates on soybean. **Biological Control**, Orlando, v.109, p.37-41, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.03.009>.

COELHO, L. F.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; AMBROSANO, G.M.B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1413-1420, 2007.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; FILHO, P. E. M. Doenças e métodos de controle. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Eds.). O cultivo da bananeira. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 279 p, 2004.

DAWAR, S.; TARIQ, M.; ZAKI, M.J. Application of *Bacillus* species in control of *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood on cowpea and mash bean. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, n.1, p. 439-444. 2008.

DINESH, B. M.; RAVICHANDRA, N. G.; REDDY, B. M.; SOMASEKHARA, Y. M. Interactions between *Radopholus similis* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* causing wilt Complex on Banana. **International Journal of Advanced Research**, Indore, v. 2, n. 9, p. 976-985, 2014.

GHOSH, P.; RATHINASABAPATHI, B.; MA, L. Q. Phosphorus solubilization and plant growth enhancement by arsenic-resistant bacteria. **Chemosphere**, v. 134, p. 1–6, 2015.

GUIMARÃES, C.P. (2011) **Controle biológico de fitonematoides na cultura da banana no norte de Minas Gerais**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros. 90p.

GUO, S.; LI, X.; HE, P.; HO, H.; WU, Y.; HE, Y. Whole-genome sequencing of *Bacillus subtilis* XF-1 reveals mechanisms for biological control and multiple beneficial properties in plants. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 42, p. 925-937, 2015.

HO, Y.N.; CHIANG, H.M.; CHAO, C.P.; SU, C.C.; HSU, H.F.; GUO, C.T.; HSIEH, J.L.; HUANG, C.C. 2015. In planta biocontrol of soil borne *Fusarium* wilt of banana through a plant endophytic bacterium, *Burkholderia cenocepacia* 869T2. **Plant Soil**, v.387, n.1-2, p.295–306. DOI 10.1007/s11104-014-2297-0.

HUANG, H.C.; ERICKSON, R.S.; HISIEH, T.F. Control of bacterial wilt of bean (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) by seed treatment with *Rhizobium leguminosarum*. **Crop Protection**, Guildford, v.26, p.1055-1061, 2007.

JANGIR, M., PATHAK, R., SHARMA, S., SHARMA, S., Biocontrol mechanisms of *Bacillus* sp., isolated from tomato rhizosphere, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, **Biological Control**, v.123, p. 60-70, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.018>.

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

JIE, L.; ZIFENG, W.; LIXIANG, C.; HONGMING, T.; PATRIK, I.; ZIDE, J.; SHINING, Z. Artificial inoculation of banana tissue culture planlets with indigenous endophytes originally from native banana plants. **Biological Control**, v.51, p.427-434, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.08.002>.

JUNIOR, G. M. B.; JUNIOR, A. F. C.; CHAGAS, L. F. B.; FILHO, M. R. C.; MILLER, L. O.; SANTOS, G. R. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* *in vitro*. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 7, n. 3, p. 45-51, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v7n3p45-51>.

KAVITHA. J.; JONATHAN, E. I.; UMAMAHESWARIR, R. Field application of *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Trichodenna viride* for the control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood on sugarbeet. **Journal of Biological Control**, v. 21, n. 2, p.211-215, 2007.

KUMAR, A. et al. Plant growth-promoting traits of phosphate solubilizing bacteria isolated from *Hippophae rhamnoides* L. (Sea-buckthorn) growing in cold desert Trans-Himalayan Lahul and Spiti regions of India. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, n. 3, p. 1–12, 2015.

LEE, Y.S.; KIM, K.Y. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.164, p.29-39, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12421>

LOPES, P. S.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; ROCHA, L. S.; MIZOBUTSI, E. H. Determination of the treatment period of banana seedlings with rhizobacteria in the control of *Meloidogyne javanica*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 4: (e-423), 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018423>.

LUDWIG, J.; MOURA A.B.; GOMES, C.B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.38, n.3, p.264-268, 2013.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento em plantas e bioproteção. Revisão Anual de Patologia de Plantas. v.4, p.1-49. 1996.

MACHADO, V.; BERLITZ, D.L.; MATSUMURA, A.T.S.; SANTIN, R.C.M.; GUIMARÃES, A.; SILVA, M.E.; FIUZA, L.M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, v. 16, n.2, p.165-182, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2012.1602.02>

MARTINS, S.J.; MEDEIROS, F.H.V.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JUNIOR, P.M. Biological control of bacterial wilt of common bean by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological Control**, Orlando, v.65, p.65-71, 2013.

NGHIA, N. K.; TIEN, T. T. M, OANH, N. T. K.; NUONG, N. H. K. Isolation and characterization of indole acetic acid producing halophilic bacteria from salt affected soil of rice – Shrimp Farming System in the Mekong Delta , Vietnam. **Agriculture, Forestry and Fisheries**, v. 6, n. 3, p. 69-77, 2017.

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

R CORE TEAM, 2016. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. (Acesso em 22/11/2017).

RIBEIRO, R.C.F.; CAMPOS, V.P.; XAVIER, A.A.; ROCHA, L. S.; RIBEIRO, H.B.; AGUIAR, F. M.; SOUZA, R. M.; MIZOBUTSI, E. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal do Panamá em bananeira. **Nematropica**, v.42, n. 2, p. 218-226, 2012.

ROCHA, L. S.; SANTANA, R. F.; SOARES, A. C. F.; HADDAD, F. Reaction of Banana cultivars to the *Meloidogyne javanica* X *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* complex. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 3, p. 572 -583, 2018.

RODRÍGUEZ-KÁBANA R; MORGAN-JONES, G; CHET, I. Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 100, p. 237-247, 1987.

SAAVEDRA, D. A. C. et al. Rizobacterias que promueven el desarrollo e incremento en productividad de *Glycine max* L. **Ciencia y Tecnología**, v. 10, p. 7–15, 2017.

SCHAFER, M.; KOTANEN, P.M. The influence of soil moisture on losses of buried seeds to fungi. **Acta Oecologica**, Paris, FR: Gauthier Villars, v. 24, p. 255-263, 2003.

SIDDIQUI, Z.A.; MAHMOOD, I. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, v.69, p.167-179, 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00122-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00122-9).

SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production. **Journal of Phytopathology**, v. 152, p. 48-54, 2004.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MOUNTEER, A. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents. **Journal of Phytopathology**, v. 151, p. 42-46, 2003.

SILVA, C. M. **Caracterização fisiológica de rizobactérias e desempenho do feijoeiro comum inoculado com bactérias solubilizadoras de fosfato**. 2018. 117 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.

SILVEIRA, A. P.D.; FREITAS, S. S. Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. 312 p.

THANGAVELU, R.; GOPI, M. Field suppression of *Fusarium* wilt disease in banana by the combined application of native endophytic and rhizospheric bacterial isolates possessing multiple functions. **Phytopathologia Mediterranea**, v.54, n.2, p.241-252, 2015. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-15160.

TIAN, B.; YANG, J.; ZHANG, K.Q. Bacteria used in the biological control of plant parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. **FEMS Microbiology Ecology**, v.61, n.2, p. 197-213, 2007. DOI:10.1111 / j.1574-6941.2007.00349.x.

TORRES, M. J.; BRANDAN, C. P.; SABATÉ, D. C.; PETROSELLI, G.; ROSA ERRA-

BALSELLS, R.; AUDISIO, M. C. Biological activity of the lipopeptide-producing *Bacillus amyloliquefaciens* PGPBacCA1 on common bean *Phaseolus vulgaris* L. pathogens. **Biological Control**, v. 105, p. 93–99, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.001>

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

VENTURA, J.A.; HINZ, R.H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.). Controle de doenças de plantas fruteiras. Viçosa. Ed. da UFV, p.839-926, 2002.

VIEIRA, F. C. S.; NAHAS, E. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. **Microbiological Research**, Jena, v. 160, n. 2, p. 197-202, 2005.

ZHAO, P.; QUAN, C.; WANG, Y.; WANG, J.; FAN, S. *Bacillus amyloliquefaciens* Q-426 as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*. **J. Basic Microbiol**, v. 54, n. 5, p. 448-456, 2013. DOI: 10.1002/jobm.201200414.

CAPITULO II

UTILIZAÇÃO DE *BACILLUS PUMILUS* NO CONTROLE DO COMPLEXO *Meloidogyne javanica* X *Fusarium oxysporum* f. sp. *cupense* EM BANANEIRA

RESUMO

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Utilização de *Bacillus pumilus* no controle do complexo *Meloidogyne javanica* x *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em bananeira.** 2019. 87 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG⁵.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação das variedades ‘Prata-Anã’ e ‘Maçã’ ao nematoide *M. javanica* (Mj) e ao fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*foc*), e as interações entre eles e o efeito de *Bacillus* sp na reprodução do nematoide e na severidade da murcha de *Fusarium*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizados (DIC), com sete repetições em esquema fatorial de 2 x 7 sendo: duas variedades de banana: Prata-Anã e Maçã, e sete tratamentos: 1) Testemunha absoluta (sem patógeno, sem agente de biocontrole); 2) mudas inoculadas com *foc* e nematoide mais o agente de biocontrole *B. pumilus* (E-09); 3) mudas inoculadas com *foc* e nematoide sem o agente de biocontrole; 4) mudas inoculadas com *foc* e o agente de biocontrole *B. pumilus* (E-09); 5) mudas inoculadas com *foc* sem o agente de biocontrole; 6) mudas inoculadas com *Mj* e o agente de biocontrole *B. pumilus* (E-09); 7) mudas inoculadas com *Mj* sem o agente de biocontrole. As mudas micropropagadas foram transplantadas em vasos de 3 litros com solo autoclavado. Uma semana após o transplantio das mudas, adicionou-se na região do colo da planta, 5 mL de suspensão aquosa contendo 3.000 ovos de *M. javanica*. Após 24 horas, foi inoculada 50 mL da suspensão de esporos de *foc* (isolado 106) na concentração de 5×10^6 esporos/mL. Uma semana após as inoculações dos patógenos aplicou-se 10 mL da suspensão de *B. pumilus* (E-09), ao solo ao redor do pseudocaule. Noventa dias após a aplicação da bactéria foram avaliadas as variáveis fitotécnicas, nematológicas e a severidade e incidência da murcha de *Fusarium*. Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de médias de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. Houve interação significativa entre os tratamentos e variedades avaliadas para as variáveis número de galhas, número de massa de ovos, número de J2/100 cm³ de solo e comprimento de lesão no pseudocaule. A presença do isolado *Bacillus* sp. reduziu a reprodução de nematoides e severidade de murcha de *Fusarium*. O isolado *B. pumilus* (E-09) apresenta potencial para o tratamento de mudas de bananeira visando o controle de *M. javanica* e da murcha de *Fusarium*.

Palavras-chave: Interação, Mal do Panamá, Musa spp, Nematoides das galhas.

⁵**Comitê de Orientação:** Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Orientadora); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Coorientadora).

ABSTRACT

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Use of *Bacillus pumilus* in the control of the *Meloidogyne javanica* x *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense complex in banana.** 2019. 87 p. Thesis (Doctor's degree in Plant Production in the Semi-Arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG⁶

The aim of this study was to evaluate the reaction of the varieties 'Prata-Anã' and 'Maçã' to the nematode *M. javanica* (Mj) and the fungus *F. oxysporum* f. sp. cubense (foc), and the interactions between them and the effect of *Bacillus sp* on nematode reproduction and on the severity of *Fusarium* wilt. The experiment was conducted in a completely randomized design with seven replications in a 2 x 7 factorial scheme: two varieties of banana Prata-Anã and Maçã, and seven treatments: 1) Absolute Witness (without pathogen and biocontrol agent); 2) seedlings inoculated with foc and nematoid plus the biocontrol agent *B. pumilus* (E-09); 3) seedlings inoculated with foc and nematoid without the biocontrol agent; 4) seedlings inoculated with foc and the biocontrol agent *B. pumilus* (E-09); 5) seedlings inoculated with foc without the biocontrol agent; 6) seedlings inoculated with Mj and the biocontrol agent *B. pumilus* (E-09); 7) seedlings inoculated with Mj without the biocontrol agent. The micropropagated seedlings were transplanted in 3-liter pots with autoclaved soil. One week after the transplanting of the seedlings, 5 ml of aqueous suspension containing 3.000 eggs of *M. javanica* was added in the region of the plant collar. After 24 hours, 50 ml of the focal spore suspension (isolate 106) was inoculated at the concentration of 5×10^6 spores / ml. One week after the pathogen inoculations, 10 mL of the bacterial suspension of the *B. pumilus* (E-09) isolate, applied close to the roots, was inoculated. At the end of 90 days of the first inoculation of the bacteria, the phytotechnological, nematological variables and the severity and incidence of *Fusarium* wilt were evaluated. The results were submitted to analysis of variance by the Scott-Knott test at 5% probability. There was a significant interaction between treatments and varieties evaluated for the number of galls, number of egg mass, number of J2/100 cm³ of soil and length of lesion in the pseudocaul. The presence of *B. pumilus* (E-09) reduced nematode reproduction and *Fusarium* wilt severity. The isolate *B. pumilus* (E-09) presents potential for the treatment of banana tree seedlings for the control of *M. javanica* and the Panama disease.

Keywords: Interaction, Root-knot nematodes, Panama disease, *Musa* spp.

²**Guidance Committee:** Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Advisor); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Co-adviser).

INTRODUÇÃO

A bananeira pode ser afetada por diversos patógenos, com reflexos negativos na produção. Destes, destacam-se entre os fitonematoides, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* que infectam raízes e causam perdas severas (GOWEN *et al.*, 2005). Dentre as doenças fúngicas, a mais destrutiva é a murcha de *Fusarium* ou Mal do Panamá causada pelo fungo habitante do solo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

F. oxysporum f. sp. *cubense* e *M. javanica* são patógenos habitantes do solo que iniciam sua infecção nas raízes jovens na região de alongamento das plantas (CAMPOS *et al.*, 2011). A penetração de *foc* no sistema radicular da bananeira ocorre pela ação mecânica de hifas e ou ferimentos causados por nematoides, a exemplo de *Meloidogyne* (SUNDARARAJU e THANGAVELU, 2009; DINESH *et al.*, 2014). Além de facilitar a penetração do fungo, *Meloidogyne* pode predispor fisiologicamente a planta hospedeira à infecção pelo fungo, afetando diretamente na severidade de *foc*. No processo de infecção no hospedeiro, os nematoides alteram a expressão de genes e o metabolismo de células vegetais devido à produção e secreção de proteínas parasitárias (HUSSEY *et al.*, 2002; DAVIS *et al.*, 2004).

Estudos em diferentes culturas têm revelado que o complexo entre *Meloidogyne* spp. e *Fusarium* spp. aumenta a severidade da fusariose (SILVA e PEREIRA, 2008; FISHER *et al.*, 2010) e dificulta o controle dessas doenças.

Várias medidas são utilizadas na prevenção e controle de *foc* e fitonematoides, como controle químico, adubação equilibrada, condução adequada do bananal e utilização de cultivares resistentes. No entanto, todas essas estratégias apresentam limitações. Embora existam cultivares resistentes a *Meloidogyne*, sua utilização nem sempre é segura devido à variabilidade das populações no campo. Para a murcha de *Fusarium* é a medida mais eficiente; porém, as variedades disponíveis não são bem aceitas para o mercado consumidor, o que desestimula seu plantio em regiões afetadas pela doença (VENTURA e HINZ, 2002).

Por outro lado, um grande número de estudos com microorganismos benéficos como fungos e bactérias tem sido desenvolvido e comercializado em todo o mundo, inclusive no Brasil (FERRAZ *et al.*, 2010). As rizobactérias e bactérias endofíticas, têm sido utilizadas em formulações para o incremento da produção agrícola e agentes de biocontrole de doenças.

Em trabalhos anteriores, isolados do gênero *Bacillus* sp. foram prospectados para atuar como agentes de biocontrole de *foc* e *Meloidogyne javanica* na cultura da banana e mostraram

resultados promissores (RIBEIRO *et al.*, 2012; LOPES *et al.*, 2018). O gênero *Bacillus* é descrito como um dos principais grupos microbianos com capacidade de agir no controle de fitopatógenos por meio da síntese de metabólitos secundários com atividade bactericida, fungicida e nematicida, inibindo o crescimento e o desenvolvimento dos agentes patogênicos, interferindo no processo de reconhecimento planta-hospedeiro, induzindo resistência e/ou proporcionando o desenvolvimento saudável da planta (TIAN *et al.*, 2007).

Em adição, o potencial uso destas bactérias é amplificado por seu baixo requerimento nutricional, que facilita a formulação de um bioproduto, e, por serem formadores de endósporos, estrutura que confere resistência em condições ambientais adversas, propiciando a sobrevivência dos agentes de biocontrole com as mudanças ambientais e garantindo a manutenção da efetividade.

Em trabalho preliminar verificou-se dentre vários isolados, que o isolado *Bacillus pumilus* (E-09) reduziu a severidade da murcha de *Fusarium* e a população de nematoides em banana ‘Prata-Anã’.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a reação das variedades Prata-Anã e Maçã ao nematoide *M. javanica* e ao fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, e as interações entre estes, e o efeito de *Bacillus* sp. na reprodução do nematoide e a severidade da murcha de *Fusarium*.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi montado em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis repetições em esquema fatorial de 2 x 7 sendo: duas variedades de banana Prata-Anã e Maçã e sete tratamentos: 1) Testemunha absoluta (sem patógeno e agente de biocontrole); 2) mudas inoculadas com *foc* e nematoide mais o agente de biocontrole *B. pumilus* (E-09); 3) mudas inoculadas com *foc* e nematoide sem o agente de biocontrole; 4) mudas inoculadas com *foc* e o agente de biocontrole *B. pumilus* (E-09); 5) mudas inoculadas com *foc* sem o agente de biocontrole; 6) mudas inoculadas com *Mj* e o agente de biocontrole *B. pumilus* (E-09); 7) mudas inoculadas com *Mj* sem o agente de biocontrole.

Mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ e ‘Maçã’ com três folhas lançadas, foram transferidas para sacos plásticos (8x15cm) com capacidade de 0,5 litros, contendo substrato de enraizamento Bioplant[®]. Em seguida foram aclimatadas em viveiro com irrigação automatizada por um período de 15 dias. Após este período, as mudas foram transplantadas

para vasos de 3,0 litros de capacidade contendo solo arenoso Neossolo fúlvico (argila: 5 dag/kg, areia: 84,5 dag/kg, silte: 10,5 dag/kg, pH: 6,4), previamente autoclavado a 120°C/60 min durante três dias consecutivos.

Uma semana após o transplante das mudas, adicionou-se um volume de 5 ml de suspensão aquosa contendo 3.000 ovos e eventuais J2 de *M. javanica* em três orifícios no solo ao redor da planta. Após 24 horas, cada muda foi inoculada com 50 ml da suspensão de esporos de *foc* (isolado 106) na concentração de 5×10^6 esporos/mL aplicados em torno do pseudocaule. Após sete dias aplicou-se ao solo ao redor do pseudocaule das mudas 10 mL da suspensão bacteriana *B. pumilus* (E-09). A suspensão foi ajustada para $OD_{540}=1,0$ de absorvância e concentração de 10^8 UFC/mL. Esta quantificação foi determinada pela contagem da concentração de bactérias, pelo método de diluição seriada. Para isso, diluições sucessivas até 10^{-9} foram feitas e alíquotas de 0,2 mL foram plaqueadas em meio Tryptic Soy Agar (TSA) em placas de Petri, onde permaneceram por 24 horas em temperatura ambiente. Após 24 horas realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônia (UFCs) (VIEIRA e NAHAS, 2005). Foram realizadas três aplicações no período de 90 dias, a intervalos de 30 dias. Os controles receberam uma solução de 10 mL de água esterilizada.

Realizaram-se adubações em todos os tratamentos, conforme recomendação para vaso (100 mg de P_2O_5 , 180 mg de $Ca(NO_3)_2$ e 150 mg de K_2SO_4), sendo o fósforo em uma única aplicação e o N e K parcelados em três vezes. Todas as adubações foram realizadas nos horários de temperaturas mais amenas do dia, no início da manhã. A irrigação foi realizada manualmente, mantendo o solo constantemente úmido.

Após 104 dias foram mensuradas as variáveis fitotécnicas: comprimento das mudas (do colo até a inserção da última folha), diâmetro do pseudocaule rente ao solo, número de folhas completamente abertas, matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca do sistema radicular, variáveis nematológicas e incidência e a severidade da murcha de *Fusarium*.

Para a avaliação das variáveis nematológicas, as raízes foram retiradas dos vasos, lavadas com água corrente, identificadas e avaliadas: número de galhas por sistema radicular, número de massas de ovos e número de ovos por sistema radicular, número de juvenis de segundo estágio (J2) por 200cm^3 de solo, extraídos de acordo com a técnica de Jenkins (1964), e fator de reprodução (FR) obtido por meio da fórmula $FR = Pf / Pi$, onde Pf é o número de ovos aos 90 dias e Pi o número de ovos utilizados na infestação do solo.

A incidência de plantas com murcha de *Fusarium* foi determinada pelos sintomas visuais da doença: amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas,

começando pelos bordos do limbo foliar e evoluindo no sentido da nervura principal e posterior murcha das folhas, que secam e quebram-se junto ao pseudocaule, dando-lhes a aparência de guarda-chuva fechado, ruptura das bainhas, formando rachadura do pseudocaule próximo ao solo.

Para estimar a severidade da murcha de *Fusarium*, as plantas foram retiradas dos vasos, lavados com água corrente e identificados. Em seguida, realizou-se um corte transversal na inserção do pseudocaule com o rizoma e atribuíu-se notas de 1 a 6, de forma que as notas representassem: 1= tecido vascular completamente claro, sem descoloração vascular; 2= pontos isolados de descoloração no tecido vascular; 3= descoloração em 1/3 do tecido vascular; 4= descoloração entre 1/3 e 2/3 do tecido vascular; 5= descoloração maior que 2/3 do tecido vascular; 6= descoloração total do tecido vascular, conforme a escala de avaliação de sintomas International Network for the Improvement of Banana and Plantain - INIBAP (CARLIER *et al.*, 2003).

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com sete repetições e cada repetição foi constituído por um vaso com uma planta de bananeira. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Os dados foram analisados por meio do software estatístico R (R Core Team, 2016).

RESULTADOS

Por meio da análise de variância, observou-se interação significativa entre os tratamentos e as variedades Prata-Anã e Maçã para as variáveis número de galhas, massas de ovos e J2 de *M. javanica* ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Os menores índices de galhas e número de J2 de *M. javanica* foram observados no tratamento Mj+ Bac para as variedades Prata-Anã e Maçã. A presença da bactéria afetou a reprodução de *M. javanica*, interferindo na interação nematoide-planta, reduzindo a reprodução de *M. javanica*. No tratamento com inoculação conjunta de Foc + Mj sem a bactéria, foi verificado aumento das variáveis nematológicas, apresentando maiores índices na variedade Maçã. A bactéria não influenciou o número de galhas na interação nematoide x foc, no entanto reduziu quando o nematoide estava isolado em ambas variedades. Houve redução do número de massas de ovos na interação fungo x nematoide e nematoide isolado na presença da bactéria na variedade Maçã. O número de J2 não foi influenciado na interação

fungo x nematoide e nem no tratamento nematoide apenas. Na interação nematoide x fungo na ausência da bactéria verifica-se por meio das variáveis número de galhas e massas de ovos que a variedade Maçã é mais suscetível ao nematoide. Na presença da bactéria não houve diferença de tais variáveis entre as variedades.

TABELA 1. Médias do número de galhas, massa de ovos por sistema radicular em mudas de bananeira e juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* por 200 cm³ de solo.

Tratamentos	Número de galhas		Massas de ovos		Número de J2	
	Prata-Anã	Maçã	PrataAnã	Maçã	Prata-Anã	Maçã
Foc+Mj+Bac	90,00 bA	90,33 bA	30,33 aA	41,66 bA	5905,8 bB	4514,1 aA
Foc+Mj	95,83 bA	121,66 dB	35,00 aA	66,33 cB	5865,8 bB	3935,0 aA
Mj+ Bac	75,83 aA	68,00 aA	26,83 aA	27,00 aA	3274,1 aA	3746,6 aA
Mj	92,83 bA	103,50 cA	37,33 aA	45,83 cB	3401,6 aA	3835,0 aA
Média	73,75		31,93		3447,91	
CV(%)	17,89		32,77		36,76	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Para a variável número de ovos e fator de reprodução foi observado efeito significativo apenas entre os tratamentos (Tabela 2). Independentemente da variedade avaliada, o menor FR de *M. javanica*, foi observado nos tratamentos Foc+ Mj+ Bac e Mj+Bac, apresentando uma redução no fator de reprodução de 57,0% e 48,5%, respectivamente.

Os menores índices para o número de ovos foram apresentados nos tratamentos com a inoculação do isolado *B. pumilus* (E-09), na interação Foc+ Mj+ Bac e Mj+Bac, com redução de 57,2 % e 48,7% respectivamente, quando comparados aos tratamentos Foc+ Mj e Mj (Tabela 2).

TABELA 2. Média do número de ovos por sistema radicular e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* em mudas de bananeira.

TRATAMENTOS	Número de ovos	FR
Foc+Mj+Bac	4967,75 a	1,65 a
Foc+Mj	8669,91 b	2,89 b
Mj+ Bac	4471,16 a	1,48 a
Mj	9166,75 b	3,05 b
Média	5445,11	1,81
CV(%)	45,10	45,08

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Como apresentado na tabela 3, observou-se interação significativa entre os tratamentos e as variedades de banana avaliadas para variável comprimento de lesão no pseudocaule ($p < 0,05$) (Tabela 3).

As plantas inoculadas com *foc* e tratadas com *B. pumilus* (E-09), apresentaram redução de 48,00 % e 35,20 % na extensão de lesão da doença no pseudocaule na variedade Prata-Anã e Maçã, respectivamente, em comparação com as plantas inoculadas apenas com o *foc*, ou com complexo fusário x nematoide, tratadas ou não com *B. pumilus* (E-09), demonstrando que a presença do nematoide intensificou a infecção pelo fungo.

TABELA 3. Comprimento de lesão no pseudocaule de mudas de bananeira, causada pelo fungo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* em mudas de bananeira.

Comprimento de lesão pseudocaule (cm)		
TRATAMENTOS	Prata-Anã	Maçã
Foc+Mj+Bac	27,00 cA	21,33 bA
Foc+Mj	29,66 cB	31,00 dB
Foc+ Bac	9,83 aA	9,00 aA
Foc	20,33 bA	25,50 cA
Média	17,36	
CV(%)	14,76	

Médias seguidas por mesma letra minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade.

Para a severidade da doença não houve efeito significativo das variedades avaliadas, sendo observadas diferenças apenas entre os tratamentos (Tabela 4). Na interação Foc+Mj sem a presença da bactéria para variedade Maçã, a severidade da doença foi maior que nos demais tratamentos, com nota de 3,5 o que corresponde a 66,00 % de descoloração no tecido vascular. Quando se adicionou a bactéria de biocontrole, no tratamento Foc+Mj+Bac, a nota foi de 2,6 que corresponde a pontos isolados de descoloração no tecido vascular. Isto demonstra que a presença da bactéria proporcionou redução da severidade da murcha de *Fusarium*. As plantas inoculadas com Foc+ Bac e Foc + *M. javanica* + Bac tiveram a redução da severidade da doença em 86,30 % e 68,30 % respectivamente, em comparação com os tratamentos Foc+ Sem Bac e Foc + *M. javanica* + Sem Bac (Tabela 4).

Independente das combinações de interações testadas não houve diferença na incidência de amarelecimento de folhas nas plantas, sendo que todas apresentaram 100% das folhas com clorose. Portanto, todas as plantas apresentaram sintomas externos na parte aérea.

TABELA 4. Médias de severidade da murcha de *Fusarium* em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ e ‘Maçã’.

Severidade da murcha de <i>Fusarium</i>		
TRATAMENTOS	Prata-Anã	Maçã
Foc+Mj+Bac	1,50 a	2,66 a
Foc+Mj	1,66 a	3,50 a
Foc+ Bac	1,50 a	3,16 a
Foc	3,50 b	3,83 a
Média	2,13	
CV(%)	49,76	

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade.

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e as variedades avaliadas, em relação às variáveis fitotécnicas (dados não apresentados).

DISCUSSÃO

A inoculação com o isolado *B. pumilus* (E-09), como alternativa de controle de *M. javanica* ou do complexo *M. javanica x foc*, proporcionou redução de 57,00 % e 48,50 % do FR do nematoide nas mudas de ‘Prata-Anã’ e de ‘Maçã’, respectivamente. Isto demonstra que presença da bactéria afetou todas as fases do ciclo de *M. javanica* e, conseqüentemente, reduziu a reprodução do nematoide.

Este efeito foi mais pronunciado quando *M. javanica* infectou as raízes, das duas variedades testadas sem a presença de foc. Espécies de *Bacillus* são consideradas antagonistas de fitonematoides, devido à produção de metabólitos tóxicos que apresentam ação direta afetando a eclosão ou a mobilidade dos juvenis (ARAÚJO *et al.*, 2018). Seus antibióticos e toxinas são absorvidos pelos ovos dos nematoides e podem também agir de forma indireta, alterando os exsudatos das raízes em subprodutos fazendo com que os nematoides não reconheçam o estímulo quimiotrópico, não encontram as raízes e morrem por inanição (ARAÚJO e MARCHESI, 2009). A produção de lipase é também mecanismos atribuídos a espécies de *Bacillus* sp. no controle de nematoides (SILVA, 2018).

Vários trabalhos têm apresentado resultados satisfatórios na inoculação de isolados de *Bacillus* no controle de nematoides, principalmente de *Meloidogyne*, em varias culturas como arroz, feijão, tomate e banana (LUDWIG *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2014; BAVARESCO e ARAÚJO, 2017; ARAUJO *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2018).

Na interação *M. javanica* x *foc*, foi verificado aumento nos índices de reprodução do nematoide nas variedades de banana avaliadas. Este resultado sugere que não houve competição entre os patógenos por sítios de infecção e/ou locais de alimentação, já que a reprodução de *M. javanica* e a severidade de *foc* não foram influenciados, em comparação ao controle inoculado apenas com *foc* ou com *M. javanica*. As possíveis alterações no metabolismo de células vegetais influenciadas pelo nematoide não interferiram na severidade do fungo, e não houve efeito de toxinas ou compostos semelhantes a hormônios produzidos pelo *foc* sobre o processo de parasitismo do nematoide (ROCHA *et al.*, 2018).

Diferente do presente trabalho, Ribeiro *et al.* (2012), ao avaliar isolados de *Bacillus* spp. no controle de *M. javanica* e murcha de *Fusarium* em bananeira, verificaram que quando inoculados nematoide x *foc*, independente da presença dos isolados de *Bacillus*, houve redução no número de J2, de galhas e de massas de ovos, atribuindo esse efeito a competição entre *M. javanica* e *foc* no sítio de infecção ou no sítio de alimentação, visto que os dois são parasitas vasculares.

Estudos mostram que a interação entre *Fusarium* sp. e *Meloidogyne* spp. aumenta a severidade da fusariose (SILVA e PEREIRA, 2008; FISHER *et al.*, 2010; SIMÃO *et al.*, 2010; ROCHA *et al.*, 2018). Isso pode explicar o aumento da lesão no pseudocaule e lesão no rizoma, no tratamento onde houve esse complexo sem a presença da bactéria. Fischer *et al.*, (2010) avaliaram a reação de maracujazeiro-amarelo ao complexo fusariose x nematoide das galhas e, mostraram maior severidade da fusariose quando em inoculação conjunta de *F. solani* e *M. incognita*.

Em trabalho realizado por Negrón e Acosta (1989), avaliando o complexo *M. incognita* e *F. oxysporum* f. sp. *coffeeae* em cafeeiro, verificaram que quando se inoculou *M. incognita* antes da inoculação do *F. oxysporum* f. sp. *coffeeae*, as hifas de *F. oxysporum* f. sp. *coffeeae* foram abundantes nos vasos do xilema, nas células gigantes e nas fêmeas. As células gigantes, colonizadas pelo fungo, estavam em vários estádios de degradação, com conteúdo esgotado ou parcialmente esgotado. Em comparação, os tratamentos que foram simultaneamente inoculados com *M. incognita* e *F. oxysporum* f.sp. *coffeeae*, as plantas tinham menos células gigantes colonizadas pelo fungo e nenhuma hifa dentro do xilema.

De acordo com Back *et al.* (2002), os danos causados pelos nematoides têm um importante papel no estabelecimento e desenvolvimento de doenças causadas por patógenos transmitidos pelo solo.

A presença do nematoide favoreceu a penetração de *foc*, intensificando o progresso da doença. Nesse sentido, a severidade deste tratamento foi condicionada pela interação *foc* x *M. javanica* e pela agressividade do isolado.

Dinesh *et al.* (2014) ao avaliarem a interação entre *R. similis* x *foc* na cultura banana, concluíram que a combinação dos patógenos reduziu a altura de plantas e aumentou a incidência e a severidade da murcha de *Fusarium*, sugerindo interação positiva entre os patógenos.

Resultados semelhantes foram obtidos por Sanjeevkumar *et al.* (2018), ao estudarem a influência de *Pratylenchus coffeae* e *M. incognita*, isoladamente ou em combinação sobre a murcha de *Fusarium*. Esses autores constataram que as plantas inoculadas com qualquer um desses nematoides, tiveram surgimento precoce e aumento da severidade da doença, e que na presença dos dois fitonematoides a severidade foi ainda maior.

Provavelmente a interação *M. javanica* x *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, observada neste estudo, seja sinérgica, isto é, a presença dos dois patógenos resulta em danos maiores do que os danos de cada patógeno isolado. No geral, o fungo se aproveita dos danos às raízes, causados pelo nematoide, para iniciar o processo de infecção, aumentando a severidade da murcha vascular (CASTILLO *et al.*, 1998; GOULART, 2009).

O nematoide atuou como um fator de predisposição para *foc*, por causar lesões na superfície radicular e enfraquecer os tecidos nesta região, possibilitando ao fungo fácil acesso para causar maiores danos, como relatado por Rao e Krishnappa (1994).

Os mecanismos das interações entre nematoides e fungos podem diferir do nematoide em particular, da planta, da interação dos patógenos e de outros fatores (DINESH *et al.*, 2014). O papel do nematoide na interação com *foc* pode ser o de causar ferimentos que servem como pontos de infecção (MAI *et al.*, 1981), para alterar a fisiologia ou bioquímica da planta levando ao aumento da doença ou para modificar a expressão de resistência da planta hospedeira (MAHESHWARI *et al.*, 1995).

Para a variável comprimento de lesão no pseudocaule, foi observado menor comprimento no tratamento Foc+ Bac nas variedades Prata-Anã e Maçã. A presença da bactéria reduziu significativamente a doença, quando comparada aos tratamentos sem a mesma e ao controle. Em bananeira, a aplicação de bactérias principalmente do gênero *Bacillus* tem apresentado resultados promissores no aumento da supressividade do solo ao mal do Panamá.

O gênero *Bacillus* apresenta a capacidade de agir no controle de fitopatógenos através de síntese de metabólitos secundários, incluindo antibióticos, antifúngicos e sideróforos. Os

metabolitos produzidos principalmente as enzimas líticas β -1,3- glucanase, protease e quitinase, atuam desempenhando papel vital na lise da parede celular fúngica que é constituída de β -glucano e quitina (ASHWINI e SRIVIDYA, 2014).

De acordo com os resultados, a interação entre esses dois patógenos intensifica os sintomas de ambas as doenças. A presença simultânea de *M. javanica* e *foc* aumenta a reprodução de nematoides e a severidade da murcha de *Fusarium*, que sugere que na presença de um patógeno há uma diminuição da resistência da planta, predispondo-a ao ataque por outros patógenos.

CONCLUSÃO

O isolado *B. pumilus* (E-09) reduz a reprodução de nematoides e a severidade da murcha de *Fusarium*, apresentando potencial para o tratamento de mudas de bananeira visando o controle de *M. javanica* e do Mal do Panamá.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ARAÚJO, J. J. S.; MUNIZ, M. F. S.; FILHO, G. M. F.; ROCHA, F. S.; CASTRO, J. M. C. *Bacillus subtilis* no tratamento de mudas de bananeira infectadas por fitonematoides. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 65, n.1, p. 099-103, 2018. DOI 10.1590/0034-737X201865010013.

ASHWINI, N.; SRIVIDYA, S. Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1.3 **Biotech.** v. 4, n.2, p. 127-136, 2014. DOI: 10.1007/s13205-013-0134-4.

BACK, M. A.; HAYDOCK, P. P. J.; JENKINSON, P. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. **Plant Pathology**, v. 51, p.683–697, 2002.

BAVARESCO, L. G.; ARAUJO, F. F. Aplicação de *Bacillus subtilis* no controle de nematoides das galhas em tomateiro. **Colloquium Agrariae**, vol. 13, n. Especial, Jul–Dez, 2017, p. 41-46. ISSN: 1809-8215. DOI: 10.5747/ca.2017.v13.nesp.000169.

CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P.; SILVA, J. R. C.; SILVA, L. H. C. P.; COSTA, L. S. A. S.; TERRA, W. C. Atração e penetração de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* em raízes excisadas de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 9, p. 1496-1502, 2011.

CASTILLO, P.; MORA-RODRÍGUEZ, M. P.; NAVAS-CORTÉS, J. A.; JIMÉNEZDIÁZ, R. M. Interactions of *Pratylenchus thornei* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on Chickpea. **Nematology**, New Delhi, v. 88, n. 8, p. 828-836, 1998.

CHARLIER, J.; WAELE, D.; ESCALANT, J. 2003. Global evaluation of *Musa* germplasm for resistance to *Fusarium* wilt, *Mycosphaerella* leaf spot diseases and nematodes. INIBAP Technical Guidelines 7:27- 62.

DAVIS, E. L.; HUSSEY, R. S.; BAUM, T. J. Getting to the roots of parasitism by nematodes. **Trends in Parasitology**, Cambridge, v. 20, n. 3, p. 134-141, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.01.005>.

DINESH, B. M.; RAVICHANDRA, N. G.; REDDY, B. M.; SOMASEKHARA, Y. M. Interactions between *Radopholus similis* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing wilt Complex on Banana. **International Journal of Advanced Research**, Indore, v. 2, n. 9, p. 976-985, 2014.

FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, v.30, n. 1, p. 194-200, 2014.

FERNANDES, R. H.; LOPES, E. A.; BONTEMPO, A.F.; FUGA, C. A. G.; VIEIRA, B. S. *Bacillus* spp. isolates for the control of *Meloidogyne incognita* in common bean. **Científica**, Jaboticabal, v.46, n.3, p.235-240, 2018. DOI:<http://dx.doi.org/10.15361/1984-5529.2018v46n3p235-240>

FISCHER, I. H.; BUENO, C. J.; GARCIA, M. J. M.; ALMEIDA, A. M. Reação de maracujazeiro-amarelo ao complexo fusariose-nematoide de galha. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 223-227, 2010. DOI: 10.4025/actasciagron.v32i2.3445.

GOULART, A. M. C. Análise de Dados em Estudos de Diversidade de Nematoides. Documentos: Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, n. 251, 2009. 46 p.

GOWEN, S.R; QUÉNÉHERVÉ, P.; FOGAIN, R. (2005) Nematodes of banana and plantains. In: Luc M, Sikora R & Bridge J (Eds.) Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2ª ed. London, CAB International. p.611-643.

HUSSEY, R. S.; DAVIS, E. L.; BAUM, T. J. Secrets in secretions: genes that control nematode parasitism of plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 14, n. 3, p. 183-194, 2002. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202002000300002>.

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

LOPES, P. S.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; ROCHA, L. S.; MIZOBUTSI, E. H. Determination of the treatment period of banana seedlings with rhizobacteria in the control of *Meloidogyne javanica*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 4: (e-423), 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018423>.

LUDWIG, J.; MOURA A.B.; GOMES, C.B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.38, n.3, p.264-268, 2013.

MAHESHWARI, T. U.; SHARMA, S. B.; REDDY, D. D. R.; HAWARE, M. P. Co-infection of wilt-resistant chickpeas by *Fusariumoxysporum* f. sp. *ciceri* and *Meloidogynejavanica*. **J.Nematol**, v.27, p. 649-653, 1995.

MAI, W. F.; BRODIE, B. B.; HARRISON, M. B.; JATALA. P. Nematode Diseases of Potatoes. In: *Compendium of Potato Diseases*. Ed. Hooker, W. J., **American Phytopathological Society**, St. Paul, p. 93-101, 1981.

NEGRÓN, J. A.; ACOSTA, N. The *Fusarium oxysporum* f.sp. *coffea*–*Meloidogyne incognita* complex in bourbon coffee. **Nematropica**, v. 19, n. 2, p. 161-168. 1989.

RAO, K.; KRISHNAPPA, K. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* at different inoculum levels on chickpea. **Indian Journal Nematology**, v. 24, p. 112-115, 1994.

R CORE TEAM, 2016. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. (Acesso em 22/11/2017).

RIBEIRO, R.C.F.; CAMPOS, V.P.; XAVIER, A.A.; ROCHA, L. S.; RIBEIRO, H.B.; AGUIAR, F. M.; SOUZA, R. M.; MIZOBUTSI, E. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal do Panamá em bananeira. **Nematropica**, v.42, n. 2, p. 218-226, 2012.

ROCHA, L. S.; SANTANA, R. F.; SOARES, A. C. F.; HADDAD, F. REACTION OF BANANA CULTIVARS TO THE *Meloidogyne javanica* X *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* COMPLEX1. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 3, p. 572-583, 2018.

SANJEEVKUMAR, K.; BALABASKAR, P.; SIVAKUMAR, T. Studies on *F. oxysporum* f. sp. *cubense* - nematode interaction in banana cv. 'Monthan'. **International Journal of Chemical Studies**, v.6, n.2, p.3708-3710, 2018.

SILVA, G. S.; PEREIRA, A. L. Efeito da incorporação de folhas de nim ao solo sobre o complexo *Fusarium* x *Meloidogyne* em quiabeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 368-370, 2008.

SILVA, C. M. **Caracterização fisiológica de rizobactérias e desempenho do feijoeiro comum inoculado com bactérias solubilizadoras de fosfato**. 2018. 117 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.

SIMÃO, G.; ORSINII, I. P.; SUMIDA, C. H.; HOMECHIN, M.; SANTIAGO, D. C.; CIRINO, V. M. Reação de cultivares e linhagens de feijoeiro em relação a *Meloidogyne javanica* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 5, p. 1003-1008, 2010.

SUNDARARAJU, P.; THANGAVELU, R. Influence of *Pratylenchus coffea* and *Meloidogyne incognita* on the Fusarium Wilt Complex of Banana. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v. 39, n. 1, p. 71-74, 2009.

TIAN, B.Y.; YANG, J.K.; LIAN, L.H.; WANG, C.Y.; ZHANG, K.Q. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 74: 372-380, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0690-1>.

VENTURA, J.A.; HINZ, R.H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.). Controle de doenças de plantas fruteiras. Viçosa. Ed. da UFV, p.839-926, 2002.

VIEIRA, F. C. S.; NAHAS, E. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. **Microbiological Research**, Jena, v. 160, n. 2, p. 197-202, 2005.

CAPITULO III
AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE BANANAL ‘PRATA-ANÃ’ NO NORTE DE
MINAS GERAIS POR *Bacillus pumilus* (E-09)

RESUMO

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Aumento na produtividade de bananal ‘Prata-Anã’ no norte de minas gerais por *Bacillus pumilus* (E-09)**. 2019. 87 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG⁷.

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas, como *Bacillus* sp., surge como uma alternativa no crescimento vegetal. Este trabalho objetivou avaliar em campo a formulação de *B. pumilus* (E-09) em arroz, como inoculante na cultura da banana visando a promoção de crescimento. O experimento foi conduzido em uma área de cultivo comercial de bananeira, na cidade de Nova Porteirinha – MG, no período de setembro de 2017 a dezembro de 2018. O delineamento experimental foi em blocos casualizado em esquema fatorial 2 x 4, os tratamentos consistiram de duas variedades de banana Maçã e Prata-Anã e aplicação de três formulações com espécies de microrganismos e a testemunha absoluta. As avaliações de crescimento altura das plantas, perímetro do pseudocaule e número de folhas foram realizadas durante a emissão inflorescência. A produção das plantas foi caracterizada no primeiro ciclo de produção. À época da colheita, foram determinados: número de pencas por cacho, massa do fruto, massa do cacho, massa da penca, massa do engaço, número de frutos por cacho, comprimento dos frutos, diâmetro do fruto e produtividade. Houve efeito significativo da aplicação dos inoculantes sobre a altura da planta, diâmetro do pseudocaule, número de frutos por penca, massa do cacho, massa da penca, massa do engaço e produtividade pelo teste de dunnett ($p < 0,05$). Na variedade Maçã a inoculação de *B. pumilus* (E-09) aumentou o número de frutos por penca e massa do cacho em 16,00 % e 18,00 %, respectivamente. As variáveis massa da penca e massa do engaço foram maiores quando se inoculou *B. metylotrophicus*, e os incrementos obtidos nestas variáveis foram de 47,80 % e 10,00 %, respectivamente. A inoculação de *T. asperellum* aumentou a altura das plantas e a produtividade em 19,2% e 25,40 % em relação à testemunha não tratada. O número de frutos por penca, massa do cacho, massa da penca, massa do engaço e o diâmetro do fruto de bananeira foram significativamente influenciados pelo uso dos produtos biológicos, principalmente os contendo espécies de *Bacillus* spp. Em condições de laboratório *B. pumilus* (E-09) se mantém até 180 dias na formulação a base de arroz. A formulação a base de *B. pumilus* (E-09) aumenta número de frutos por penca, massa do cacho e o diâmetro do fruto em bananeira; *T. asperellum* aumenta a produtividade de banana ‘Maçã’.

Palavras chave: Bactéria, desenvolvimento, produção, *Musa* spp.

ABSTRACT

SANTOS, Bruna Hanielle Carneiro dos. **Increase in productivity of banana ‘Prata-Anã’ in northern Minas Gerais by *Bacillus pumilus* (E-09)**. 2019. 87 p. Thesis (Doctor’s degree in Plant Production in the Semi-Arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG⁸

² **Comitê de Orientação:** Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Orientadora); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Coorientadora).

The use of plant growth promoting bacteria, such as *Bacillus* sp., appears as an alternative in plant growth. This work aimed to evaluate in the field the formulation of *B. pumilus* (E-09) in rice, as an inoculant in banana cultivation aimed at promoting growth. The experiment was carried out in a banana commercial orchard, in the city of Nova Porteirinha - MG, from September 2017 to December 2018. The experimental design was a randomized block design in a 2 x 4 factorial scheme, treatments consisted of two varieties of banana Maçã and Prata-Anã and application of three formulations with species of microorganisms and the absolute control. Plant growth assessments were performed during inflorescence emission. The evaluations regarding the production of the plants were carried out in the first production cycle. There was a significant effect of application of inoculants on plant height, pseudocaule diameter, number of fruits per penca, penca mass, loam mass and productivity by test of dunnett ($p < 0.05$). In the Maçã variety, inoculation of *B. pumilus* (E-09) showed only effect on the number of fruits per penca and bunch mass, with an increase of 16,00 % and 18,00 % for these variables. The variables plague mass and loam mass were higher when *B. metlylotrophicus* was inoculated, and the increments obtained in these variables were 47,8% and 10,00 %, respectively. The effect of *T. asperellum* inoculation was observed for plant height and productivity, presenting an increase of 19,20 % and 25,40 % in relation to the untreated control. The number of fruits per shoot, shoot mass, shoot mass, shoot mass and diameter of the banana fruit were significantly influenced by the use of biological products, especially those containing *Bacillus* spp. Under laboratory conditions *B. pumilus* (E-09) is maintained for up to 180 days in rice based formulation. The formulation based on *B. pumilus* (E-09) increases number of fruits per bunch, bunch weight and diameter of the banana fruit; *T. asperellum* increases banana productivity 'Maçã'.

Keywords: Agricultural inoculants, Formulation, Growth promotion, Rice, Musa spp.

²**Guidance Committee:** Prof^a. DSc. Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Advisor); Prof^a. DSc. Regina Cássia Ferreira Ribeiro (Co-adviser).

INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) é uma das fruteiras mais cultivadas nos países tropicais e seu fruto é um dos mais consumidos no mundo (NOMURA *et al.*, 2013). A bananicultura movimenta a economia e gera empregos diretos e indiretos, além de representar importante fonte de renda para pequenos e grandes agricultores (SALOMÃO *et al.*, 2016).

Nas últimas décadas um grande número de estudos tem sido conduzido em busca de microrganismos benéficos ao crescimento vegetal e agentes de controle biológico, visando o aumento da produtividade agrícola e o desenvolvimento de sistemas de produção mais sustentáveis. Uma das alternativas que a cada dia mais se difunde, é a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) (SOUZA *et al.*, 2015).

Essas bactérias, são encontradas principalmente na região da rizosfera, podem atuar como agentes protetores contra patógenos, sintetizar fitormônios, atuar na melhoria do aporte de nutrientes pelas plantas e induzir mudanças na fisiologia, apresentando efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência e crescimento de plantas (AHMAD *et al.*, 2008).

Os gêneros mais estudados incluem *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*. A promoção do crescimento de plantas por espécies de *Bacillus* spp. deve-se a mecanismos diretos pela produção de fitohormônios, fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fosfatos, aumento da permeabilidade das raízes e produção de sideróforos (CAVALCANTE *et al.*, 2007; KUSS *et al.*, 2007; BALDOTTO *et al.*, 2010; PII *et al.*, 2015). Produzem diversos metabólitos e endósporos que são estruturas resistentes a fatores físicos, como elevada temperatura, radiação e desidratação (TEJERA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Os endósporos viabilizam o preparo de formulações com maior estabilidade, o que torna essas bactérias ainda mais interessantes para o desenvolvimento de formulação e armazenamento dos produtos inoculantes (TIAGO *et al.*, 2004; PÉREZ-GARCIA, 2011; LAGERLÖF *et al.*, 2015).

Diversos estudos têm apresentado respostas positivas na utilização de espécies de *Bacillus* spp. para as características fisiológicas de crescimento em bananeiras (BASET MIA *et al.*, 2010; ANDRADE *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2017).

Na atualidade, o uso de espécies de *Bacillus* spp. nos solos agrícolas é uma influência para as interações e processos microbianos no solo. Podem agir como biofertilizantes, biocontroladores e fitoestimulantes (BENEDUZI *et al.*, 2012). Várias espécies de *Bacillus* spp. estão disponíveis comercialmente em forma de produtos que são usados como promotores de crescimento vegetal e agentes de controle biológico (JHA e SARAF, 2015), como os produtos o Kodiak[®] (*B. subtilis* GB03), Rhizovital[®] (*B. amyloliquefaciens* FZB42),

Ballad[®] (*B. pumilus* QST 2808), Subtilex[®] (*B. subtilis* MBI 600), Taegro[®] (*B. amyloliquefaciens*) (PÉREZ-GARCIA *et al.*, 2011; BETTIOL *et al.*, 2012; CHOWDHURY *et al.*, 2013; MONSANTO, 2015).

A utilização de bactérias é uma prática ambientalmente correta que pode conferir sustentabilidade a várias culturas, reduzindo assim os custos de produção e os impactos ambientais causados pelo uso indiscriminado de fertilizantes no campo (PEDRAZA *et al.*, 2010). Entretanto, no Brasil, poucos estudos foram realizados com o uso de formulações com *Bacillus* spp. na cultura da banana.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a formulação de *B. pumilus* (E-09) em arroz, como inoculante na cultura da bananeira visando à promoção de crescimento, em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Multiplicação e formulação de *B. pumilus* (E-09) a base de arroz

Para o preparo do inoculante sacos plásticos de polietileno autoclaváveis de 20 x 30 cm contendo 150 g de arroz e 110 mL de água destilada foram utilizados para a produção do inoculante biológico a base de *B. pumilus* (E-09). Os sacos foram fechados, em seguida foram autoclavados a 121 °C, por 1 hora e resfriados a temperatura ambiente, em câmara de fluxo laminar.

Para o preparo da suspensão bacteriana, 1 mL contendo células de *B. pumilus* (E-09) foi adicionado em 50 mL de meio Tryptic-Soy-Broth (TSB), incubadas e mantidas a 28 °C por 24 horas em agitador de bandeja orbital, sob agitação de 200 rpm. Após este período em câmara de fluxo, a suspensão bacteriana foi adicionada individualmente aos sacos plástico contendo arroz esterilizado, na proporção de 50 mL da suspensão para cada 150 g do veiculador. As formulações foram misturadas e agitadas manualmente para promover a homogeneização, e em seguida foram armazenados em sala de incubação a 26 °C, onde permaneceram por 24 horas, até a inoculação em campo.

Para estimar a quantidade de células bacterianas viáveis de *B. pumilus* (E-09) presente no inoculante, 1 grama de arroz foi macerado em 9 mL de água destilada autoclavada. Em seguida uma alíquota de 1 mL foi transferida para tubos de ensaio com 9 mL de água destilada autoclavada e agitadas em vortex em alta velocidade durante 15 minutos. Diluições sucessivas até 10⁻⁹ foram feitas e, alíquotas de 0,2 mL foram plaqueadas em meio

TSA (Trypic-Soy-Agar), contidos em placas de Petri. Após 24 horas do plaqueamento, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônia (UFCs) (VIEIRA e NAHAS, 2005). Este processo foi realizado todas as vezes que se produziu o inoculante.

Viabilidade de inoculante com *B. pumilus* (E-09) formulado em arroz.

Para testar a viabilidade do inoculante, 12 frascos de vidro contendo 100 g de arroz e 110 ml de água destilada foram autoclavados a 121 °C, por 1 hora e resfriado a temperatura ambiente, em câmara de fluxo laminar.

Para o preparo da suspensão bacteriana, 1 mL de células viáveis de *B. pumilus* (E-09) foi adicionado em 50 mL de meio Trypic-Soy-Broth (TSB), incubadas e mantidas a 28 °C por 24 horas em agitador de bandeja orbital, sob agitação de 200 rpm. Após este período em câmara de fluxo, uma suspensão bacteriana na concentração de $1,1 \times 10^9$ ufc/mL foi adicionada individualmente nos frascos de vidro contendo arroz esterilizado, na proporção de 50 mL da suspensão para cada 100 g de arroz. As formulações foram agitadas manualmente para promover a homogeneização e incubadas nas mesmas condições descritas anteriormente. Em seguida, o inoculante foi mantido em geladeira a 4 °C, por um período de até 240 dias.

A avaliação da sobrevivência da bactéria em arroz foi realizada mensalmente. A cada mês foi realizada a quantificação de células bacterianas viáveis de *B. pumilus* (E-09) presente no inoculante. Para isso, 1 g de arroz foi macerado em 9 mL de água destilada autoclavada, em seguida uma alíquota de 1 mL desse macerado foi transferido para tubos de ensaio com 9 mL de água destilada autoclavada e agitados em vortex em alta velocidade durante 15 minutos. Diluições sucessivas até 10^{-9} foram feitas e alíquotas de 0,2 mL das diluições 10^{-5} a 10^{-9} foram incubadas em placa de Petri contendo meio Trypic-Soy-Agar (TSA), em triplicatas. Após 24 horas do plaqueamento, as colônias bacterianas foram contadas e expressa como número de (UFCs) por grama de arroz (VIEIRA e NAHAS, 2005).

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os dados das contagens de UFCs a cada 30 dias foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de significância e análise de dispersão dos dados.

Experimento de campo em bananal comercial, em Nova Porteirinha – MG

O experimento foi instalado em um bananal comercial, no município de Nova Porteirinha/MG, no período de setembro de 2017 e dezembro de 2018. Foram utilizadas

mudas micropropagadas da variedade Prata-Anã e Maçã adquiridas da Campo Biotecnologia Vegetal, com um padrão mínimo de 3 cm de comprimento. Estas mudas foram transplantadas para tubetes, contendo substrato de enraizamento Bioplant[®] e mantidas em casa de vegetação por 15 dias. Ao atingirem o comprimento de 7 cm e três folhas totalmente expandidas, as mudas foram transplantadas para sacos plásticos (8x15cm) com capacidade de 0,5 litros, contendo o mesmo substrato de enraizamento Bioplant[®], onde permaneceram por 20 dias até o momento do plantio.

Antes do plantio das mudas de bananeira, o solo foi amostrado na profundidade de 0 a 0,20 m, para a caracterização química e física do solo (Tabela 1).

TABELA 1. Análise química e física do solo, na profundidade de 0-0,20 m, fazenda Saruê, Nova Porteirinha/MG.

Composição Química								
pH	MO	K	Ca	Mg	H+Al	Al	CTC	V
Água	dag/Kg	--mg/dm ³ --	-----cmolc/dm ³ -----					(%)
6,7	1,6	259,0	4,5	1,8	0,9	0,1	7,9	89
Composição Física								
Areia			Silte			Argila		
-----dag/kg-----								
26,3			20,0			53,7		

O Delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 4, sendo 2 variedades de banana Maçã e Prata-Anã, 3 produtos testados: inoculante formulado com isolado *B. pumilus* (E-09) em arroz, produtos biológicos comerciais a base de *Bacillus methylothrophicus* e *Trichoderma asperellum* e a testemunha absoluta, com 6 repetições e 3 por tratamento. Os tratamentos consistiram de:

- 1) Testemunha absoluta Maçã
- 2) Testemunha absoluta Prata-Anã
- 3) Maçã + Produto biológico a base de *B. pumilus* (E-09)
- 4) Prata-Anã + Produto biológico a base de *B. pumilus* (E-09)
- 5) Maçã + Produto biológico comercial a base de *T. asperellum*
- 6) Prata-Anã + Produto biológico comercial a base de *T. asperellum*
- 7) Maçã + Produto biológico comercial a base de *B. methylothrophicus*
- 8) Prata-Anã + Produto biológico comercial a base de *B. methylothrophicus*

O plantio das mudas micropropagadas de bananeira ‘Maçã’ e ‘Prata-Anã’, foi realizado em sulcos com profundidade de 0,20 m, no espaçamento de 2,5 m x 3,0 m.

Uma semana após o plantio das mudas, foram realizados os tratamentos com inoculação dos microorganismos na superfície do solo. A formulação com *B. pumilus* (E-09) em arroz foi aplicada na quantidade de 150 g de arroz por planta e concentrações de 4×10^8 UFCs mL⁻¹, aplicados ao redor de cada planta selecionada.

Para os tratamentos com inoculação dos produtos biológicos comerciais *B. methyliotrophicus* e *T. asperellum*, cada planta recebeu 0,05 g do produto comercial diluído em 250 mL de água, conforme recomendação do fabricante.

As adubações foram realizadas de acordo com as recomendações para a cultura (PEREIRA *et al.*, 1999). O sistema de irrigação utilizado foi por gotejamento, com irrigações realizadas diariamente. Os tratos culturais foram realizados conforme recomendação de manejo para a cultura na região, com a eliminação das plantas daninhas efetuada mensalmente, e a retirada do coração logo após a abertura da última penca.

As avaliações de crescimento altura das plantas, perímetro do pseudocaule e número de folhas foram realizadas no momento da emissão da inflorescência. A altura da planta foi mensurada com auxílio de uma trena semi-flexível posicionada desde o nível do solo até a roseta foliar (ponto de inserção do engaço no pseudocaule) até o ponto de inserção da terceira folha mais nova. O diâmetro do pseudocaule foi determinado com fita métrica, medindo-se a circunferência do pseudocaule, em centímetros, a uma altura de 30 cm do solo. Para o número de folhas considerou-se àquelas totalmente abertas.

A produção das plantas foi caracterizada no primeiro ciclo de produção. A colheita foi realizada quando os frutos atingiram o máximo crescimento e foram determinados: massa das pencas (kg), massa do engaço (kg), número de frutos por penca, comprimento dos frutos (cm), diâmetro dos frutos (mm) e produtividade. A massa da penca e do engaço foram determinados com o auxílio de balança e expressos em quilogramas. Foi feita contagem direta número de frutos de cada penca. O comprimento e o diâmetro do fruto foram mensurados no fruto central da fileira externa de cada penca, o comprimento mensurado com o auxílio de fita métrica e o diâmetro com o uso de paquímetro digital.

A produtividade foi calculada com base no peso do cacho *versus* a quantidade de plantas por hectare e o resultado expresso em t ha⁻¹ utilizando a fórmula: PROD = (peso cacho – peso do engaço) * Número de plantas ha⁻¹.

Os dados das características vegetativas e de produção foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparados pelo teste de Scott-Knott e Dunnett a 5 %

de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software estatístico R, versão 3.2.4. (R CORE TEAM, 2016).

RESULTADOS

Viabilidade do inoculante com *B. pumilus* (E-09) a base de arroz.

Na Figura 1 estão descritos os valores obtidos do número de células bacterianas viáveis existentes por mL da formulação, ao longo de 240 dias incubação. A partir destes dados, observa-se que o número de UFCs de *B. pumilus* (E-09) manteve um crescimento até aos 60 dias de incubação. A partir deste período, houve uma redução no número de células bacterianas e aos 180 dias de armazenamento quantificou-se 10^8 UFC/g do inoculante e, aos 210 dias não foi verificada nenhuma viabilidade do inoculante (Figura 1).

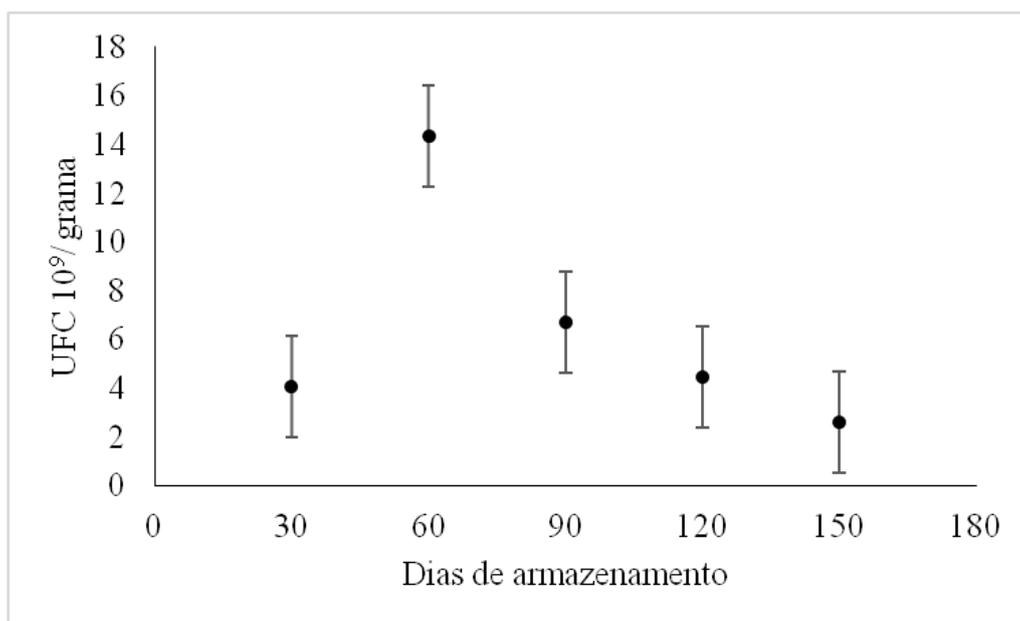


FIGURA 1. Determinação da viabilidade de *B. pumilus* (E-09) formulado em arroz, no período e 240 dias.

Avaliação de crescimento e produtividade de bananeira inoculadas com produtos biológicos

Não houve interação significativa entre as variedades e os tratamentos avaliados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Observou-se efeito significativo da aplicação dos inoculantes sobre a altura da planta, diâmetro do pseudocaule (DP), número de frutos por

penca (NFP), massa do cacho, massa da penca (MP), massa do engaço (ME) e produtividade pelo teste de dunnett ($p < 0,05$). Na variedade Maçã a inoculação de *B. pumilus* E-09) apresentou efeito apenas sobre o número de frutos por penca (NFP) e massa do cacho (MC), com aumento de 16,00 % e 18,00 % respectivamente. As variáveis massa da penca e massa do engaço foram maiores quando se inoculou *B. metlylotrophicus*, e os incrementos obtidos nestas variáveis foram de 47,80% e 10,00%, respectivamente (Tabela 2). O efeito da inoculação de *T. asperellum* foi observado para altura das plantas e produtividade, apresentando um aumento de 19,20 % e 25,40 % em relação à testemunha não tratada.

A aplicação dos inoculantes na rizosfera da variedade Prata-Anã não influenciou a maioria das características de crescimento e de produção avaliada (Tabela 2). Apenas as plantas que receberam *B. pumilus* (E-09) apresentaram aumento de 21,10 % no diâmetro do fruto quando comparada com a testemunha.

A inoculação com produtos biológicos a base de *Bacillus* apresentou desempenho nas características de crescimento e produção da bananeira em campo. O tratamento com a inoculação da bactéria *B. pumilus* (E-09) formulado em arroz, apresentou efeito significativo para as variáveis número de frutos por penca, massa do cacho e diâmetro do fruto sendo comparado aos produtos comerciais com espécies de *T. asperellum* e *B. metlylotrophicus*.

TABELA 2. Médias de altura da planta, Diâmetro do Pseudocaule (DP), Número de Folhas (NF), Número de Frutos por Penca (NFP), Massa do Cacho (MC), Massa da Penca (MP), Comprimento do Fruto (CF), Diâmetro do Fruto (DF), Massa do Engaço (ME) e Produtividade (PROD) de bananeiras ‘Maçã’ e ‘Prata-Anã’ inoculadas com formulação de *B. pumilus* (E-09), *T. asperellum* e *B. metlylotrophicus*.

TRATAMENTOS	Altura (m)	DP (cm)	NF	NFP	MC (Kg)	MP (Kg)	CF (cm)	DF (mm)	ME (Kg)	PROD (t ha ⁻¹)
Maçã + <i>B. pumilus</i> (E-09)	2,9 ^{ns}	63,2 ^{ns}	10,2 ^{ns}	14,0 *	19,6a	2,4 ^{ns}	17,0 ^{ns}	36,2 ^{ns}	2,0 ^{ns}	29,6 *
Maçã + <i>T. asperellum</i>	3,1 *	68,4 ^{ns}	9,2 ^{ns}	13,2 ^{ns}	19,2a	2,4 ^{ns}	17,0 ^{ns}	39,1 ^{ns}	2,0 ^{ns}	30,0 *
Maçã + <i>B. metlylotrophicus</i>	3,0 ^{ns}	68,0 ^{ns}	10,6 ^{ns}	13,6 *	19,3a	3,2 *	18,0 ^{ns}	36,0 ^{ns}	2,2 *	28,7 *
Testemunha (Maçã)	2,6	63,4	8,4	12,0	16,6	2,3	16,2	32,6	2,00	23,6
TRATAMENTOS	Altura (m)	DP (cm)	NF	NFP	MC (Kg)	MP (Kg)	CF (cm)	DF (mm)	ME (Kg)	PROD (t ha ⁻¹)
Prata Anã + <i>B. pumilus</i> (E-09)	2,6 ^{ns}	64,8 ^{ns}	11,0 ^{ns}	13,8 ^{ns}	18,8 ^{ns}	2,5 ^{ns}	17,4 ^{ns}	38,4a	2,2 ^{ns}	27,9 ^{ns}
Prata Anã + <i>T. asperellum</i>	2,5 ^{ns}	65,2 ^{ns}	11,6 ^{ns}	12,8 ^{ns}	17,0 ^{ns}	2,1 ^{ns}	18,2 ^{ns}	32,1 ^{ns}	2,0 ^{ns}	25,1 ^{ns}
PrataAnã+ <i>B. metlylotrophicus</i>	2,5 ^{ns}	65,2 ^{ns}	12,0 ^{ns}	13,2 ^{ns}	18,8 ^{ns}	2,6 ^{ns}	18,8 ^{ns}	34,4 ^{ns}	2,2 ^{ns}	27,9 ^{ns}
Testemunha (Prata-Anã)	2,6	65,1	12,0	12,4	18,7	2,1	17,2	31,7	1,9	28,3

* significativo e ^{ns} não significativo pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos para viabilidade de inoculante com *B. pumilus* (E-09) à base de arroz, a bactéria se adaptou ao ambiente e as quantidades de nutrientes disponíveis no meio mantiveram seu crescimento populacional até os 150 dias de armazenamento.

O melhor resultado se dá aos 60 dias de armazenamento, porém aos 150 dias a concentração de células viáveis atende ao mínimo exigido pela legislação brasileira. Embora verificado declínio na sobrevivência do isolado na formulação, suas populações permaneceram acima 10^8 UFC mL⁻¹ durante 180 dias de armazenamento. A queda brusca deste valor pode ser justificada pelo esgotamento de nutrientes do meio de cultura e pelo aumento dos produtos tóxicos provenientes do próprio metabolismo bacteriano (ISCSS, 2009).

Bashan *et al.* (2014) citam que os inoculantes devem apresentar três características fundamentais: 1- promover o crescimento bacteriano; 2- manter viáveis as células por um certo período de tempo e 3- garantir a liberação de uma população bacteriana que certamente será benéfica para as plantas na qual encontram-se associadas.

Um fator importante relacionado à produção de um inoculante diz respeito ao tempo de sobrevivência das bactérias. De acordo com a legislação brasileira, inoculantes comerciais à base de microorganismos devem apresentar concentrações mínimas de 10^8 células viáveis por grama do produto por um período mínimo de 180 dias (GUIMARÃES *et al.*, 2013).

A sobrevivência bacteriana em material transportador é um desafio para o desenvolvimento de produtos comerciais e formulações à base de *Bacillus* têm sido descritas para o biocontrole (PÉREZ-GARCIA *et al.*, 2011; BETTIOL *et al.* 2012; CHOWDHURY *et al.*, 2013; MONSANTO, 2015) como excelentes colonizadores de raízes (VAN LOON *et al.* 1998).

Espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus* são descritas como as mais utilizadas em formulações comerciais por apresentarem características de um agente de biocontrole eficaz, ou seja, a competência da rizosfera, promoção do crescimento de plantas e atividade antagonista (NAUTLYAL *et al.*, 2002).

Assim para que as bactérias cheguem viáveis até o produtor agrícola, são necessários veículos de inoculação capazes de mantê-las biologicamente ativas. As formulações também devem apresentar a característica de proteger os microorganismos de efeitos ambientais

prejudiciais e preservar a sua atividade e eficácia na promoção do crescimento das plantas e supressão de doenças (VAN VEEN *et al.* 1997; JONES e BURGESS, 1998).

Khabbaz e Abbasi (2014) avaliaram a viabilidade de células bacterianas de *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus subtilis*, em formulações com turfa e talco em pó e verificaram a redução da viabilidade das células bacterianas ao longo do tempo, mas as populações permaneceram acima de 10^8 UFC / g durante o período de armazenamento de 180 dias. A concentração de células viáveis de *Bacillus* sp. em formulação com arroz, obtidas neste estudo, incentiva o desenvolvimento de estudos relacionados com as formulações em maior escala para microrganismos deste gênero, com alta eficiência para atuação na agricultura.

Nos resultados do experimento em campo as plantas avaliadas foram classificadas como de porte médio, com médias variando de 2,59 m a 2,93 m de altura. Segundo Santos *et al.* (2006), essa faixa de altura é adequada comercialmente, facilitando a colheita e os tratamentos culturais na cultura.

Os resultados obtidos na avaliação das características de produção mostraram que, para a variável número de frutos por penca, a maior produção foi obtida no tratamento com aplicação de *B. pumilus* (E-09), embora não tenha diferido estatisticamente do tratamento *B. metylotrophicus* quando inoculadas na variedade Maçã. A promoção de crescimento vegetal elicitada por *Bacillus* spp. decorre principalmente da capacidade destas bactérias produzirem hormônios vegetais e facilitarem a entrada de nutrientes, via fixação de nitrogênio atmosférico, solubilização de fósforo e síntese de sideróforos (ADESEMOYE *et al.*, 2009; BENEDUZI *et al.*, 2012; PAZ *et al.*, 2012), estimulando diretamente o crescimento vegetal (PÉREZ-GARCIA, 2011).

O efeito promotor de crescimento vegetal por isolados de *Bacillus* spp. já foi verificado em várias culturas como de tomate, milho, alface, algodão e banana (EL HUSSEINI *et al.*, 2012; FAN *et al.*, 2012; ALMAGHRABI *et al.*, 2013; CHOWDHURY *et al.*, 2013; TAN *et al.*, 2013; ANDRADE *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2017). Existem vários produtos inoculantes à base desses microrganismos registrados e comercializados no mercado mundial (PÉREZ-GARCIA, 2011; CHOWDHURY *et al.*, 2013).

Neste trabalho, o efeito benéfico similar entre as diferentes formulações dos produtos biológicos sobre o crescimento da bananeira indica que a metodologia utilizada no preparo e desenvolvimento do produto biológico, ou seja, a formulação em arroz com *Bacillus* sp. E-09 foi adequada para disponibilizar a bactéria em quantidade e viabilidade adequada para o estabelecimento da interação benéfica com a planta.

A formulação do inoculante é um dos pontos cruciais no desenvolvimento de novas tecnologias, e tem representado um dos principais problemas na utilização massiva das BPCP para o uso comercial (ARAÚJO, 2008). Várias substâncias têm sido utilizadas em formulações experimentais como: lactose, peptona, goma arábica e xantana, celulose, turfa entre outras (SCHISLER *et al.*, 2004). As variações nas formulações e seus constituintes podem ser um dos fatores que expliquem a baixa relação entre a descoberta de cepas microbianas promissoras para a agricultura e a disponibilização de novos produtos biológicos no mercado (BASHAN *et al.*, 2014).

Os modos de ação das BPCP são diversos e nem todas as bactérias possuem os mesmos mecanismos, o que torna um grande desafio compreender sua interação com as plantas (VEJAN *et al.*, 2016). Uma das maiores limitações relacionadas ao uso prático de BPCP às plantas, visando uma agricultura sustentável, é a inconsistência e a variabilidade dos resultados obtidos em ensaios laboratoriais, casa de vegetação e campo, ou mesmo entre diferentes condições de campo, prejudicando o desenvolvimento de produtos microbianos comerciais formulados (PARNELL *et al.* 2016).

Entretanto, cabe ressaltar que no presente trabalho, os tratamentos à base de produtos biológicos aumentaram as variáveis avaliadas, em relação aos obtidos na testemunha. As variáveis como número de frutos por penca, massa do cacho, massa da penca, massa do engajo, assim como o diâmetro do fruto, foram significativamente influenciados pelo uso dos produtos biológicos, principalmente os contendo espécies de *Bacillus* spp.

Desta forma, muito ainda deve ser pesquisado para o entendimento de como BPCP interagem com as plantas e quais mecanismos estão envolvidos na promoção de crescimento vegetal de modo a desenvolver bioinoculantes formulados com BPCPs que atuem consistentemente, mesmo em diferentes condições e culturas. Porém, identifica-se aqui um grande potencial a ser explorado.

CONCLUSÃO

Nas condições de laboratório, *B. pumilus* (E-09) se mantém viável até 180 dias na formulação a base de arroz e, quando inoculado em bananeiras recém-plantadas, aumenta o número de frutos por penca, massa do cacho e o diâmetro do fruto do primeiro ciclo de produção das bananeiras ‘Prata-Anã’ e ‘Maçã’.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de Incentivo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-462, 2008.

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M.S. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, v.163, p.173-181, 2008.

ADESEMOYE, A.O.; TORBERT, H.A.; KLOEPPER, J.W. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. **Microbial Ecology**, Cambridge, v.58, p.921- 929, 2009.

ALMAGHRABI, O.A.; MASSOUD, S.I.; ABDELMONEIM, T.S. Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. **Saudi Journal of Biological Science**, Amsterdã, v.20, n.1, p.57-61, 2013.

ALVES, E. J. et al. Caracterização e avaliação de germoplasma de banana (*Musa* spp.). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1984, Florianópolis: SBF/ Empasc, 1984. p. 202-212.

ANDRADE, L. F.; SOUZA, G. L. O. D.; SILVIA NIETSCH, S.; XAVIER, A. A.; COSTA, M. R.; CARDOSO, A. M. S.; PEREIRA, M. C. T.; PEREIRA, D. F. G. S. Analysis of the Abilities of Endophytic Bacteria Associated with Banana Tree Roots to Promote Plant Growth. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 27–34, 2014. DOI 10.1007/s12275-014-3019-2.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. L.; BRESSANSMITH, R. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, n.2, p.349-60, 2010.

BARRET, M.; MORRISSEY, J.P.; O'GARA, F. Functional genomics analysis of plant growth-promoting rhizobacterial traits involved in rhizosphere competence. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v.47, p.729-743, 2011.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E.; PRABHU, S.R.; HERNANDEZ, J.P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, Dordrecht, v.378, p.1-33, 2014.

BASET MIA, M. A.; SHAMSUDDIN, Z. H.; WAHAB, Z.; MARZIAH, M. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa* spp. cv. 'Berangan'). **Scientia Horticulturae**, v.126, p.80-87, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.06.005>

BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1044–1051, 2012.

BETTIOL W.; MORANDI, M. A.; PINTO, Zavame; PAULA JR, T. J.; CORRÊA, É.; MOURA, A.; LUCON, C. M.; COSTA, J.; BEZERRA, J. L.. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. São Paulo: Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 2012. p.155.

CAVALCANTE, J.J.V.; VARGAS, C.; NOGUEIRA, E.M.; VINAGRE., F.; SCHWARCZ, K.; BALDANI, J.I.; FERREIRA, P.C.; HEMERLY, A.S. Members of the ethylene signaling pathway are regulated in sugarcane during the association with nitrogen-fixing endophytic bacteria. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.58, n.3, p.673-86, 2007.

CHOWDHURY, S.P.; DIETEL, K.; RANDLER, M.; SCHIMID, M.; JUNGE, H.; BORRIS, R.; HARTMANN, A.; GROSCH, R. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on lettuce growth and health under pathogen pressure and its impact on the rhizosphere bacterial community. **Plos One**, San Francisco, v.8, n.7, p.1-10, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068818>.

EL-HUSSEINI, M.M.; BOCHOW, H.; JUNGE, H. The biofertilising effect of seed dressing with pgpr *Bacillus amyloliquefaciens* FZB 42 combined with two levels of mineral fertilising in african cotton production. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Quebec, v.45, n.19, p.2261-2271, 2012.

FAN, B.; CARVALHAIS, L.C.; BECKER, A.; FEDOSEYENKO, D.; VON WIREN, N.; BORRISS, R. Transcriptomic profiling of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 in response to maize root exudates. **BMC Microbiology**, Londres, v.12, p.116, abr./jun. 2012.

GHIRARDI, S.; DESSAINT, F.; MAZURIER, S.; CORBERAND, T.; RAAJIMAKERS, J.M.; MEYER, J.M.; DESSAUX, Y.; LEMANCEAU, P. Identification of traits shared by rhizosphere-competent strains of fluorescent Pseudomonads. **Microbial Ecology**, Cambridge, v.64, n. 3, p.725-737, 2012. DOI:10.1007/s00248-012-0065-3.

GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D.; JACOB-NETO, J. Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 10-15, 2013.

INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DO SUL. Manual prático de microbiologia. Disponível em: http://www.egasmoniz.edu.pt/ficheiros/alunos/anos_antteriores/microbiologia/pratica/CAPITULO09.pdf>. Acesso em: 31/01/2019.

JHA, D. C.; SARAF, M. Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR): a review. **Journal of Agricultural Research and Development**, v.5, n.2, p.0108-0119,2015. DOI: 10.13140/RG.2.1.5171.2164.

JONES, K.A.; BURGESS, H.D. Technology of formulation and application. In: Formulation of microbial biopesticides. Edited by H.D. Burgess. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, Netherlands. pp. 7–30, 1998.

KHABBAZ, S. E.; ABBASI, P.A. Isolation, characterization, and formulation of antagonistic bacteria for the management of seedlings damping-off and root rot disease of cucumber. **Can. J. Microbiol.** v. 60, p. 25–33, 2014. DOI:dx.doi.org/10.1139/cjm-2013-0675.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M. et al. Diagnóstico microbiológico. 5.ed. Rio de Janeiro: Editora Medsi, 2001. 1465p.

KUSS, A.V.; KUSS, V.V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M.L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético *in vitro* por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.10, p.1459-65, 2007.

LAGERLÖF, J.; AYUKE, F.; BEJAI, S.; JORGE, G.; LAGERQVIST, E.; MEIJER, J.; JOHNMUTURI, J.; SÖDERLUND, S. Potential side effects of biocontrol and plant-growth promoting *Bacillus amyloliquefaciens* bacteria on earthworms. **Applied Soil Ecology**, v.96, p.159-164, 2015.

LIMA, M. B.; SILVA, S. O.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, W. S. J.; GUARRIDO, M. S.; AZEVEDO, R. L. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira no Recôncavo baiano. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 515-520, 2005.

MONSANTO. Quickroots. Estados Unidos. Disponível em: <<http://www.monsanto.com/products/pages/quickroots-us.aspx>>. Acesso em: 26 out. 2018.

NAUTLYAL, C.S., JOHRI, J.K., AND SINGH, H.B. Survival of the rhizospherecompetent biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* NBRI2650 in the soil and phytosphere. **Can. J. Microbiol.** v.48, n.7, p.588–601, 2002. DOI:10.1139/w02-054. PMID: 12224558.

NOMURA, E. D.; DAMATTO JUNIOR, E. R.; FUZITANI, E. J.; AMORIM, E. P.; SILVA, S. O. Avaliação agrônômica de genótipos de bananeiras em condições subtropicais, Vale do Ribeira, São Paulo – Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 35:112-122, 2013.

PARNELL, J. J.; BERKA, R.; YOUNG, H. A.; STURINO, J. M.; KANG, Y.; BARNHART, D. M.; DILEO, M. V. From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 1110, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.01110.

PAZ, I.C.; SANTIN, R.C.; GUIMARÃES, A.M.; ROSA, O.P.; DIAS, A.C.; QUECINE, M.C.; AZEVEDO, J.L.; MATSUMURA, A.T. Eucalyptus growth promotion by endophytic *Bacillus* spp. **Genetic and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.11, n.4, p.3711-3720, 2012.

PEDRAZA, R. O.; TEIXEIRA, K. R.; FERNÁNDEZ SCAVINO, A.; GARCÍA DE SALAMONE, I.; BACA, B. E.; AZCÓN, R.; BALDANI, V. L.; BONILLA, R. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. **Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 11, n. 2, p. 155-164, 2010.

PÉREZ-GARCIA, A.; ROMERO, D.; VICENTE, A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. **Current Opinion in Biotechnology**, Cambridge, v.22, n.2, p.187-193, 2011.

PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v.51, p.403-415, 2015.

R CORE TEAM, 2016. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. (Acesso em 22/11/2017).

SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L.; LINS, L. C. R.; CECON, P. R. Crescimento e produção da bananeira (*Musa* spp. AAB) ‘Prata-Anã’, oriunda de rizoma e micropropagada. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n.3, p. 340-347, 2016. DOI: 10.1590/0034-737X201663030010

SANTOS, S. C.; CARNEIRO, L. C.; NETO, A. N. S.; JÚNIOR, E.P.; FREITAS, H. G.; PEIXOTO, C. N. Caracterização morfológica e avaliação de cultivares de bananeira resistentes a sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 449-453, 2006.

SCHISLER, D. A.; SLININGER, P. J.; BEHLE, R. W.; JACKSON, M. A. Formulation of *Bacillus* spp. For biological control of plant diseases. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, p. 1267-1271, 2004.

SILVA, S. de O.; ALVES, E. J. Melhoramento genético e novas cultivares de bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 196, p. 91-96, 1999.

SILVA, S. de O.; ROCHA, S. A.; ALVES, E. J.; CREDICO, M.; PASSOS, A. R. Caracterização morfológica e avaliação de cultivares e híbridos de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 161-169, ago. 2000.

SIQUEIRA, C. L. **Crescimento e produção da bananeira ‘Prata-Gorutuba’ em plantios adensados**. 2018. 77 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal no Semiárido) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG, Brasil.

SOTO BALLESTERO, M. Bananas: cultivo y comercialización. 2. ed. San José: Litografía e Imprensa, 1992. 674 p.

SOUZA, R.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, v.38, n.4, p.401-419, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>.

SOUZA, G. L.O. D.; SILVA, D. F.; NIETSCH, S.; XAVIER, A. A.; PEREIRA, M. C. T. Endophytic bacteria used as bioinoculants in micropropagated banana seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 39, n. 2: (e-324), 2017. DOI 10.1590/0100-29452017324.

TAN, S.; DONG, Y.; LIAO, H.; HUANG, J.; SONG, S.; XU, Y.; SHEN, Q. Antagonistic bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* induces resistance and controls the bacterial wilt of tomato. **Pest and Management Science**, Londres, v.69, n.11, p.1245-1252, 2013.

TEJERA-HERNÁNDEZ, B.; ROJAS-BADÍA, M. M.; HEYDRICH-PÉREZ, M. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. **Revista CENIC - Ciencias Biológicas**, v. 42, n. 3, p. 131–138, 2011.

TIAGO, I.; TEIXEIRA, I.; SILVA, S.; CHUNG, P.; VERISSIMO, A.; MANAIA, C.M. Metabolic and genetic diversity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from composted municipal sludge on poly-epsilon-caprolactones. **Current Microbiology**, Heidelberg, v.49, p.407-414, 2004.

VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annu. Rev. Phytopathol.** v.36, p.453-483, 1998. DOI:10.1146/annurev.phyto.36.1.453. PMID:15012509.

VAN VEEN, J.A.; VAN OVERBEEK, L.S.; VAN ELSAS, J.D. Fate and activity of microorganisms introduced into soil. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v.61, p.121-135, 1997. PMID:9184007.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; NASRULHAQ BOYCE, A. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability - a review. **Molecules**, v.21, 573, 2016. DOI: 10.3390/molecules21050573.

VIEIRA, F. C. S.; NAHAS, E. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperatures. **Microbiological Research**, Jena, v. 160, n. 2, p. 197-202, 2005.

CONCLUSÃO GERAL

As épocas de aplicação dos isolados bacterianos interferem no controle da murcha de *Fusarium* e *M. javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’.

Os isolados *B. subtilis* (R-34), *Bacillus* sp. (E-07), *B. pumilus* (E-09) e *Bacillus* sp. (E-13) reduzem o índice de gravidade da doença quando aplicados após o plantio das mudas de bananeira ‘Prata-Anã’ em vasos.

Os isolados *B. subtilis* (R-34), *B. subtilis* (R-42), *Bacillus* sp. (R-76) e *B. pumilus* (E-09) reduzem a capacidade reprodutiva de *M. javanica*, quando aplicados na aclimação e após o plantio de mudas de bananeira ‘Prata Anã’ em vasos.

O isolado *B. pumilus* (E-09) reduz a reprodução de nematoides e a severidade da murcha de *Fusarium*, apresentando potencial para o tratamento de mudas de bananeira visando o controle de *M. javanica* e do Mal do Panamá.

Nas condições de laboratório, *B. pumilus* (E-09) se mantém viável até 180 dias na formulação a base de arroz e, quando inoculado em bananeiras recém-plantadas, aumenta o número de frutos por penca, massa do cacho e o diâmetro do fruto do primeiro ciclo de produção das bananeiras ‘Prata-Anã’ e ‘Maçã’.