

Comunicação

***Bacillus subtilis* no tratamento de mudas de bananeira infectadas por fitonematoides¹**

Jardel Jean da Silva Araújo², Maria de Fátima Silva Muniz^{2*}, Gilson Moura Filho²,
Fernando da Silva Rocha³, José Mauro da Cunha e Castro⁴

10.1590/0034-737X201865010013

RESUMO

A utilização de material propagativo sadio constitui importante medida de controle para os nematoides da bananeira (*Musa* spp.), pois, assim, evita-se a introdução desses patógenos em áreas isentas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de *Bacillus subtilis* (Nemathel®) no tratamento de mudas, do tipo chifre, de bananeira subgrupo Terra cv. Comprida, infectadas por uma população mista com *Radopholus similis*, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp. e *Helicotylenchus* spp. Foram testadas diferentes doses do produto (50; 100; 150; 200 e 250 mL/10 L de água) mais as testemunhas positiva (nematicida) e negativa (água). As mudas foram imersas em cada um dos tratamentos por 30 minutos e plantadas em vasos com solo esterilizado. A avaliação foi realizada após quatro meses e as doses de 200 e 250 mL do produto por 10 L de água proporcionaram as maiores reduções das populações dos nematoides em raízes e rizomas.

Palavras-chave: controle biológico; *Musa* spp.; rizobactérias; tratamento de mudas.

ABSTRACT

***Bacillus subtilis* in the treatment of banana plantlets infected by nematodes**

The use of healthy propagative plant material is an important management method for nematodes in banana crops (*Musa* spp.), once it prevents the introduction of nematodes in non-infested areas. The aim of this work was to evaluate the effect of the bio-nematicide Nemathel® (*Bacillus subtilis*) on Terra banana plantlets cv. Comprida infected with a mixed population of *Radopholus similis*, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., and *Helicotylenchus* spp. Different doses of Nemathel® (50, 100, 150, 200, and 250 mL/10 L water) were tested in addition to the positive (nematicide) and negative (water) treatments. The plantlets were immersed in each treatment for 30 min and subsequently, planted in pots containing sterilized soil in greenhouse. The evaluation was performed four months later. Dosages of 200 and 250 mL of Nemathel®/10 L in water showed the greatest reduction of nematode populations in roots and rhizomes.

Key words: biological control; *Musa* spp.; rhizobacteria; treatment of plantlets.

Submetido em: 27/11/2015 e aprovado em 21/02/2018.

¹Extraído da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

²Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, Alagoas, Brasil. jean.jardel@gmail.com; mf.muniz@uol.com.br; gmf.ufal@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. rochafplant@yahoo.com.br

⁴Embrapa Semiárido, Petrolina, Pernambuco, Brasil. mauro.castro@embrapa.br

*Autora para correspondência: mf.muniz@uol.com.br

INTRODUÇÃO

Dentre os fatores bióticos que afetam a cultura da bananeira (*Musa* spp.), merecem destaque os nematoides *Radopholus similis* (Cobb) Thorne, *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) Golden, *Pratylenchus coffeae* (Zimmerman) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, *Meloidogyne* spp. e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira que infectam raízes e rizomas e causam perdas severas (Gowen *et al.*, 2005).

As principais medidas de controle para esses nematoides incluem a utilização de mudas micropropagadas, rotação de culturas e aplicação de nematicidas químicos (Gowen *et al.*, 2005). Por outro lado, bionematicidas à base de fungos e bactérias têm sido desenvolvidos e comercializados em todo o mundo, inclusive no Brasil (Ferraz *et al.*, 2010).

Vários organismos são considerados antagonistas de fitonematoides, incluindo a rizobactéria *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, que podem agir de forma direta, afetando a eclosão ou a mobilidade dos juvenis. Seus antibióticos e toxinas são absorvidos pelos ovos dos nematoides e podem também agir de forma indireta, alterando os exsudatos das raízes ou induzindo a resistência sistêmica (Ferraz *et al.*, 2010).

O efeito inibidor de isolados de *B. subtilis* em fitonematoides pode ser constatado por meio da microbiolização de sementes, com reduções na reprodução de *Meloidogyne* spp. nas culturas do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.), (Ludwig *et al.*, 2013; Fernandes *et al.*, 2014). Essa bactéria apresenta, também, potencial em aplicação preventiva no tratamento de mudas micropropagadas de bananeira, para controle de *M. javanica* (Treub) Chitwood. Entretanto,

não foram encontrados estudos envolvendo *B. subtilis* no tratamento de material propagativo naturalmente infectado (Lopes, 2011; Ribeiro *et al.*, 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento de mudas convencionais de bananeira, infectadas por nematoides, com o bionematicida comercial à base de *B. subtilis* (Nemathel®).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas - CECA/UFAL, de julho a novembro de 2014. Utilizaram-se mudas do tipo chifre, de bananeira subgrupo Terra cv. Comprida, provenientes de área infestada por fitonematoides.

A população inicial (Pi) de nematoides foi estimada pela técnica de Coolen & D'Herde (1972), em alíquotas de 10 g de rizoma/muda. Após a extração, os nematoides foram mortos e fixados em formaldeído, a 4%, aquecido. A estimativa populacional foi realizada em lâmina de Peters, em microscópio de objetiva invertida, conforme as descrições de Mai & Mullin (1996) e Mekete *et al.* (2012).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com sete tratamentos, constituídos por doses de Nemathel® (50, 100, 150, 200 e 250 mL/10 L de água), além de água (testemunha negativa) e o nematicida Carbofurano (Furadan® 350 SC) a 400 mL do produto comercial por 100 L de água (testemunha positiva). Foram utilizadas cinco repetições, cada uma constituída por uma muda, imersa, por período de 30 minutos, em calda com cada tratamento. Posteriormente, as mudas foram plantadas em vasos com 8 L de capacidade, que continham solo esterilizado em estufa (100 °C/24 h).

Tabela 1: População inicial (Pi) de fitonematoides, em 10 g de rizoma; densidade populacional final (Pf), em 10 g de rizoma, em raízes e em 100 cm³ de solo e total; fator de reprodução (Pf/Pi), quatro meses após o plantio

Tratamento	População Inicial ¹	Densidade Populacional ¹			Densidade Populacional Total ¹ Raiz+Rizoma+Solo	Fator de Reprodução ¹ Raiz+Rizoma+Solo
		Rizoma	Raiz	Solo		
Água	1.005,3 a	85.840,0 a	91.013,3 a	21,3 a	176.874,6 a	207,7 a
50 mL	826,6 a	8.000,0 b	7.960,0 b	38,6 a	15.332,0 b	31,2 b
100 mL	1.630,6 a	5.786,6 b	6.786,6 b	14,6 a	12.588,0 b	36,7 b
150 mL	1.382,7 a	5.680,0 b	8.559,9 b	21,3 a	14.261,3 b	37,1 b
200 mL	888,0 a	26,0 c	70,6 c	18,6 a	115,4 c	0,5 c
250 mL	1313,3 a	23,9 c	17,6 d	33,3 a	74,9 c	0,1 c
Carbofurano	1.316,0 a	1,1 d	0,6 e	17,3 a	19,0 d	0,03 c
QMR ²	0,0814 ^{ns}	0,0383**	0,0298**	0,1558 ^{ns}	0,0318**	0,0580**
GLR ³	28	28	28	28	28	28
Média	1194,62	15051,08	16344,10	23,59	31323,59	44,76
CV (%)	9,5	7,1	6,1	31,7	5,5	24,5

¹Dados transformados em log (x+1) para análise de variância. Valores seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (p < 0,05). ²Quadrado Médio do Resíduo. ³Grau de Liberdade do Resíduo. ^{ns}Não significativo até 5% de probabilidade. **Significativo até 1% de probabilidade.

A avaliação do percentual de brotação das mudas e da população de nematoides no solo, rizomas e raízes ocorreu após quatro meses do plantio. Os nematoides foram extraídos de 100 cm³ de solo e de 10 g de cada tecido vegetal, utilizando-se as metodologias de Jenkins (1964) e de Coolen & D'Herde (1972). O cálculo do fator de reprodução [FR = população final (raiz+rizoma+solo)/população inicial] foi determinado conforme Oostenbrink (1966).

Os dados foram transformados em $\log(x+1)$ e submetidos à análise de variância. Para comparar os dados das testemunhas com as doses do bionematicida, foram utilizados o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$) e o software SAEG 5.0. Também foram realizadas análises de regressão da população dos nematoides, em solo, raízes e rizoma, da população final e do fator de reprodução, como variáveis dependentes das doses do bionematicida.

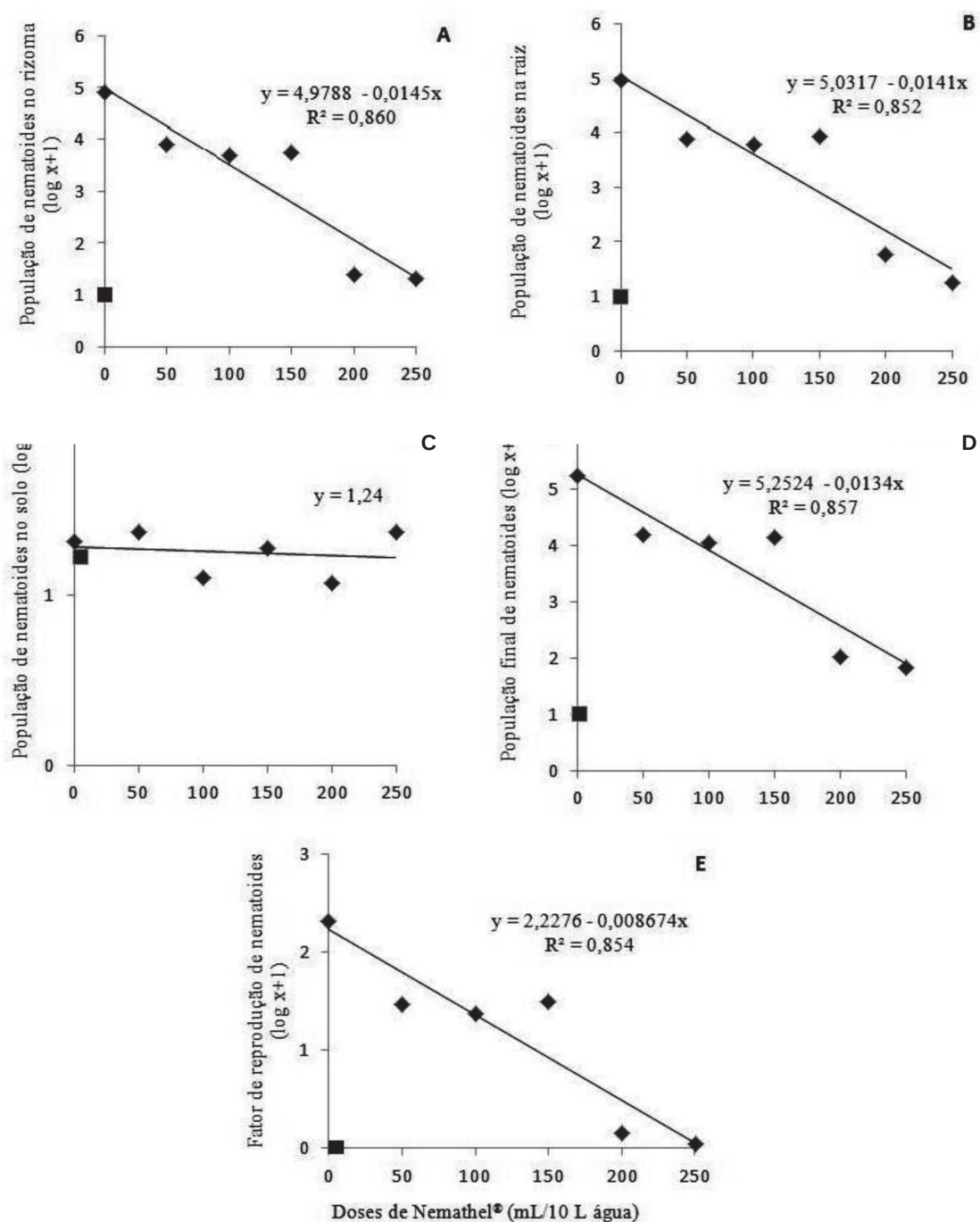


Figura 1: Populações de nematoides ($\log x+1$), em resposta ao tratamento de mudas de bananeira com diferentes doses do bionematicida Nematicid® e do nematicida químico (■). A) Rizoma, B) Raízes, C) Solo, D) População final, E) Fator de reprodução.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Pi de nematoides nos rizomas mostrou a presença de uma população mista, constituída por *R. similis*, *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp. e *Helicotylenchus* spp., com predomínio do último gênero e densidade populacional média dos tratamentos de 826,5 a 1630,62 espécimes/10 g de tecido. Não houve diferença estatística na avaliação da Pi, demonstrando a uniformidade da infestação de nematoides nas repetições (Tabela 1). A percentagem de brotação das mudas foi de 100%.

Em todos os tratamentos com o bionematicida, houve redução das populações finais de nematoides, quando comparadas com a testemunha negativa. Observaram-se as menores densidades populacionais nas doses de 200 e 250 mL do produto por 10 L de água, com $FR < 1$, que se igualaram às do Carbofurano (Tabela 1). Verificou-se, também, significância na análise de regressão efetuada com o modelo linear para as variáveis avaliadas, exceto para a população dos nematoides no solo (Figura 1), confirmando-se que o aumento das doses do bionematicida afeta negativamente a população dos nematoides.

O potencial de *B. subtilis* para reduzir populações de nematoides ficou evidente, principalmente com espécies de *Meloidogyne*, em várias culturas, quando aplicado ao solo ou em microbiolização de sementes (Araújo & Marchesi, 2009; Cardozo & Araújo, 2011; Mutua *et al.*, 2011; Ludwig *et al.*, 2013; Fernandes *et al.*, 2014).

Na cultura da bananeira, foi comprovada a redução das populações de *Meloidogyne* sp., *H. multicinctus*, *R. similis* e *P. coffeae* por micro-organismos antagonistas, incluindo *B. subtilis* aplicado ao solo em áreas de cultivo comercial (Guimarães, 2011). Lopes (2011) verificou redução na reprodução de *M. javanica*, em mudas micropropagadas, quando imersas em suspensões de células de rizobactérias, dentre as quais, *B. subtilis*, e, posteriormente, inoculadas com suspensão de ovos do nematoide. Ribeiro *et al.* (2012) também constataram a eficiência de *B. subtilis* em mudas micropropagadas e inoculadas com suspensão de juvenis de segundo estágio de *M. javanica*. Nesses trabalhos, os autores empregaram bananeira 'Prata-Anã', considerada resistente a *R. similis*, enquanto, neste trabalho, foi empregado o cultivar Comprida, susceptível a esse nematoide (Cordeiro *et al.*, 2016).

A resposta de bananeiras à infecção por nematoides também depende do tipo de material propagativo empregado para o plantio. Mudas tradicionais comportaram-se como mais tolerantes, quando artificialmente inoculadas, com densidades populacionais de nematoides mais elevadas que aquelas obtidas por micropropagação (Blomme *et al.*, 2004). Todavia, não se encontrou, na literatura científica, informação sobre a utilização de *B. subtilis* no tra-

tamento de mudas convencionais naturalmente infectadas por nematoides, o que amplia as opções de manejo desses fitopatógenos na cultura da bananeira.

CONCLUSÃO

Bacillus subtilis aplicado por via do tratamento de mudas com Produto comercial Nemathel® nas doses de 200 e 250 mL/10 L de água, reduziu a reprodução de fitonematoides em bananeira, com eficiência equiparada à do Carbofurano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa ao primeiro autor, e à Empresa Caxiense de Controle Biológico Ltda (ECCB), pelo fornecimento do bionematicida.

REFERÊNCIAS

- Araújo FF & Marchesi GVP (2009) Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção de crescimento do tomateiro. *Ciência Rural*, 39:1558-1561.
- Blomme G, Beule H, Swennen RL, Tenkouano A & Waele D (2004) Effect of nematodes on root and shoot growth of in vitro propagated and sword sucker-derived plants of six *Musa* spp. genotypes. *Nematology*, 6:593-604.
- Cardozo RB & Araújo FF (2011) Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 15:1283-1288.
- Coolen WA & D'Herde CJ (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, State Agricultural Research Center. 77p.
- Cordeiro ZJM, Matos AP & Kimati H (2016) Doenças da bananeira. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A & Camargo LEA (Eds.) *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 5ªed. Ouro Fino, Agronômica Ceres. p.109-123.
- Fernandes RH, Vieira BS, Fuga CAG & Lopes EA (2014) *Pochonia clamydosporea* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. *Bioscience Journal*, 30:194-200.
- Ferraz S, Freitas LG, Lopes EA & Dias-Arieira CR (2010) Manejo sustentável de fitonematoides. Viçosa, Editora UFV. 306p.
- Gowen SR, Quénehervé 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.
- Guimarães CP (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.
- Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48:692.
- Lopes OS (2011) Aplicação de rizobactérias em explantes e plântulas de bananeira 'prata-anã' no controle de *Meloidogyne javanica* e no desenvolvimento de mudas. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros. 123p.

- Ludwig J, Moura AB & Gomes CB (2013) Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. *Tropical Plant Pathology*, 38:264-268.
- Mai WF & Mullin PG (1996) Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera. 5th ed. New York, Cornell University. 277p.
- Mekete T, Dababat A, Sekora N, Akyazi F & Abebe E (2012) Identification key for agriculturally important plant-parasitic nematodes: a manual for nematology. Mexico, CIMMYT. 22p.
- Mutua GK, Karanja NK, Ayuke F, Ndukhu H & Kimenju JW (2011) The potential of *Bacillus subtilis* and *Rhizobium leguminosarum* in controlling plant-parasitic nematodes in farmers' fields. *African Crop Science Conference Proceedings*, 10:209-215.
- Oostenbrink M (1966) Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Wageningen, Mededelingen Landbouwhogeschool. 46p.
- Ribeiro RCF, Campos VP, Xavier AA, Rocha LS, Ribeiro HB, Aguiar FM, Souza RM, Mizobutsi EH & Dias-Arieira CR (2012) Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal do Panamá em bananeira. *Nematropica*, 42:218-226.