

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**ACTINOMICETOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E AGENTES  
DE BIOCONTROLE DO NEMATÓIDE CAVERNÍCOLA DA  
BANANEIRA *Radopholus similis***

**LORENA BLOISI VAZ SAMPAIO DA PAIXÃO**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA**

**JULHO – 2008**

**ACTINOMICETOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E AGENTES  
DE BIOCONTROLE DO NEMATÓIDE CAVERNÍCOLA DA  
BANANEIRA *Radopholus similis***

**LORENA BLOISI VAZ SAMPAIO DA PAIXÃO**

Engenheira Agrônoma  
Universidade Estadual de Santa Cruz, 2005.

Dissertação submetida à Câmara de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

**Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Fermino Soares**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2008

## FICHA CATALOGRÁFICA

P149 Paixão, Lorena Bloisi Vaz Sampaio da.

Actinomicetos promotores de crescimento e agentes de biocontrole do nematóide cavernícola da bananeira *Radopholus similis*. / Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão. 2008. 68f.: il., tab., graf.

Orientador: Ana Cristina Fermino Soares.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2008.

1. Banana – controle biológico 2. Banana - nematóides. 3. Banana – crescimento. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título

CDD 20.ed. 634.772

## COMISSÃO EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Fermino Soares  
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB  
(Orientadora)

---

Dr. Antonio Alberto Rocha Oliveira  
EMBRAPA - Mandioca e Fruticultura Tropical

---

Dr. Jorge Teodoro de Souza  
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB

Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em  
Ciências Agrárias em.....

Conferindo o Grau de Mestre em Ciências Agrárias  
em.....

Aos meus pais Roberto José da Paixão e Laura Maria Bloisi Vaz Sampaio da Paixão, pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas. Aos meus irmãos, esposo, filha, minha bonequinha que só veio alegrar minha vida. Aos meus avós, tios e primos.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Algumas pessoas marcam a nossa vida para sempre, umas porque nos vão ajudando na construção, outras porque nos apresentam projetos de sonho e outras ainda porque nos desafiam a construí-los. Quando nos damos conta, já é tarde para lhes agradecer.

Aos meus pais Roberto José da Paixão e Laura Maria Bloisi Vaz Sampaio da Paixão, por todo carinho e amor, que foram de fundamental importância para que eu pudesse chegar até aqui;

Aos meus irmãos Roberto, Ronaldo e Bernardo, pelo companheirismo e cumplicidade;

Ao meu esposo Lucas que esteve comigo durante toda essa caminhada;

À minha filhinha, Maria Isabel, que só veio a abrilhantar a minha vida;

Ao meu avô Clovis, minha avó Zeny, que me aturaram todo esse tempo;

Aos meus tios Clovis e Claudia, e primos, Rafa, Tatai e Neto, pelo apoio;

Aos colegas de curso: Patrícia, Bruna, Thyane, Dijaneide, Tâmara e em especial ao colega Augusto, pelo companheirismo, dedicação e apoio incondicional durante todo o desenvolvimento da dissertação;

À orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina F. Soares pelos valiosos ensinamentos;

Aos estagiários e técnicos do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola da UFRB por estarem sempre dispostos a ajudar;

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB pela oportunidade da realização do Curso de Mestrado;

À EMBRAPA – Mandioca e Fruticultura Tropical, pelo auxílio;

À FAPESB, pelo apoio financeiro na concessão da bolsa de mestrado e auxílio ao projeto de dissertação, possibilitando o desenvolvimento do trabalho;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO .....	01
Capítulo 1	
ACTINOMICETOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE BANANEIRA .....	18
Capítulo 2	
ACTINOMICETOS NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DO NEMATÓIDE CAVERNÍCOLA DA BANANEIRA <i>Radopholus similis</i> .....	42
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	56

# ACTINOMICETOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO E AGENTES DE BIOCONTROLE DO NEMATÓIDE CAVERNÍCOLA DA BANANEIRA *Radopholus similis*

**Autor:** Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão

**Orientadora:** Ana Cristina Fermino Soares

**RESUMO:** Os objetivos desse trabalho foram: quantificar a população bactérias totais e actinomicetos na rizosfera e raiz de plantas de bananeira; caracterizar os isolados de actinomicetos quanto à produção de enzimas extracelulares; avaliar o potencial dos actinomicetos na promoção de crescimento de mudas de bananeira cv. William e o efeito de metabólitos secundários produzidos por estes microrganismos na mortalidade do nematóide cavernícola *Radopholus similis*. As densidades populacionais de bactérias totais foram superiores as de actinomicetos e não variaram significativamente no solo rizosférico, em comparação com as raízes de plantas de bananeira. A caracterização fisiológica revelou que, dos isolados testados, 63,0%, 43,5% e 6,5% apresentaram atividade celulolítica, xilanolítica e quitinolítica, respectivamente. Foi observado efeito de promoção de crescimento de mudas de bananeira pelos actinomicetos, o qual depende do isolado avaliado. Foram observados incrementos de até 46,2% na altura de mudas, 65,5% no diâmetro do pseudocaule, 283,6% produção de matéria seca da parte aérea e 447,5% na produção de matéria seca da raiz de mudas de bananeira produzidas em substrato inoculado e incubado com os actinomicetos. No segundo experimento, conduzido com diferentes actinomicetos, foram obtidos incrementos de até 109,1% e 81,4% na altura da planta e diâmetro do pseudocaule, respectivamente. Para matéria seca da parte aérea e da raiz, os incrementos atingiram valores de 182,3% e 161,6% respectivamente. Foi demonstrado o efeito *in vitro* de biocontrole do nematóide *R. similis* por actinomicetos. Os isolados AC12, AC30, AC33, AC51, AC52, AC25, AC36 e AC39 promoveram imobilidade acima de 50% desse nematóide. Os isolados mais eficientes foram AC39, AC52, AC30, AC33, AC12, AC51, AC25 e AC36, que apresentaram 100%, 80%, 72%, 66,7%, 61,3%, 53,3%, 52% e 50,7%, respectivamente, de mortalidade do nematóide *R. similis*.

**Palavras-chave:** Promoção de crescimento, controle biológico, *Musa* sp.

## **ACTINOMYCETES AS PLANT GROWTH PROMOTING AND BIOLOGICAL CONTROL AGENTS OF *Radopholus similis* IN BANANA PLANTS**

**Author:** Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão

**Advisor:** Ana Cristina Fermino Soares

**ABSTRACT:** The objectives of this work were: to quantify the population of total bacteria and actinomycetes in the rizosfera and roots of banana plants cv FHIA 18; to characterize the actinomycetes for their ability to produce extracellular enzymes; to evaluate the potential of these actinomycetes for growth promotion of banana plants, cv. William, and to evaluate the effect of secondary metabolites produced by these microorganisms in the mortality of *Radopholus similis*. The population densities of total bacteria were higher than those of actinomycetes, and did not present significant differences in rhizosphere soil as compared to their populations in roots of banana plants. The physiological characterization showed that 63.0%, 43.5% and 6.5% presented celulolitic, xilanolytic, and chitinolytic activity, respectively. For growth promotion of banana plants, on both experiments, significant increments in plant dry matter production were observed, which depended on the actinomycete isolate tested. In the first experiment, significant increments of as high as 46.2% were observed for plant height, 65.5% for plant stem diameter, 283.6% for plant aerial parts dry matter production, and 447.5% for root dry matter. In the second experiment, with different actinomycetes, increments of up to 109.1%, and 81.4% were obtained for plant height and stem diameter, respectively. For root and aerial parts dry matter production, an increase of up to 182.3% and 161.6%, respectively, was also observed. The in vitro biocontrol of the nematode *R. similis*, by actinomycete isolates was demonstrated in this work. The isolates AC12, AC30, AC33, AC51, AC52, AC25, AC36, and AC39 caused over 50% imobility of *R. similis*. The most efficient isolates were AC39, AC52, AC30, AC33, AC12, AC51, AC25, and AC36, which caused, respectively, a mortality of 100%, 80%, 72%, 66.7%, 61.3%, 53.3%, 52%, and 50.7% of *R. similis*.

**Key-words:** Promotion of growth, biological control, *Musa* sp.

## INTRODUÇÃO

Originária da Índia, a banana, *Musa* sp. é uma das frutas há mais tempo consumida pelo homem e a mais popular de todas, sendo consumida no mundo inteiro. É uma planta de clima quente e úmido, que pertence à família das musáceas (MOREIRA, 1999).

A Índia é o maior produtor mundial de banana e o Brasil ocupa o 2º lugar, com cerca de 9% do que é produzido mundialmente (FAO, 2008). A cultura da banana tem grande importância social, por permitir a fixação do homem no campo, gerando mais de 500.000 empregos diretos, sendo uma das culturas mais plantadas no país, e importante fonte de alimento. A bananicultura ocorre em todos os estados brasileiros e é prática comum entre os agricultores familiares. Dados da FAO (2008) indicam que em 2005, o país produziu 6.703.400 t de banana, correspondendo a um aumento de 1,8% em relação ao que foi produzido em 2004. São Paulo continua sendo o primeiro estado produtor no Brasil, com 1.178.140 t (17,6% da produção nacional), enquanto que a Bahia detém a segunda maior produção (975.620 t, correspondendo a 14,6% do total), com um acréscimo significativo de produção entre os anos de 2004 e 2005 (11,8%), em razão de uma maior área colhida. Em 2005, o estado da Bahia apresentou a maior área com bananicultura do Brasil (FAO, 2008), sendo Wenceslau Guimarães o município com maior produção de bananas do país, com 164.000 t.

A cultura da banana apresenta um série de problemas fitossanitários, destacando-se o nematóide cavernícola *Radopholus similis*, em razão dos danos que ele pode vir a causar a planta (COSTA, 2000).

Em relação aos nematóides, estes constituem o mais abundante grupo de animais multicelulares em número de indivíduos no universo, estimado em um milhão de espécies (CHRISTIE, 1986). São animais microscópicos, essencialmente aquáticos, usualmente chamados de vermes (designação antiga dada também a minhocas e outros organismos, cuja forma do corpo é longa e delgada). Há espécies que se alimentam de fungos ou de bactérias, sendo chamados de nematóides de vida livre. Outros parasitam animais (zooparasitos) ou plantas (fitoparasitos) (VIGLIECHIO, 1991).

Os nematóides fitoparasitos de plantas vivem no solo ou no interior de estruturas vegetais, tais como: folhas, caules e, principalmente, raízes. Estes possuem um órgão similar a uma agulha de seringa, o estilete, com o qual introduzem substâncias nas células, digerindo e sugando o conteúdo celular. Dessa forma, os nematóides se alimentam e também podem introduzir toxinas na planta (THORNE, 1961).

Os nematóides fitoparasitas que promovem a destruição do sistema radicular, induzindo a formação de nodulações ou lesões necróticas nas raízes, impedem as plantas de absorverem água e nutrientes, reduzem a capacidade de sustentação da planta, ocorrendo freqüentes casos de tombamento da planta pela ação do vento ou pelo próprio peso do cacho, em bananeiras (DIAS e RIBEIRO JUNIOR, 2001).

Segundo Demuner *et al.*, (2008), os prejuízos anuais causados por nematóides na agricultura atingem a cifra de 100 bilhões de dólares no mundo inteiro. Essas perdas são grandes em todo o mundo. Porém, são especialmente intensas em regiões tropicais e subtropicais, onde fatores ambientais como temperatura, tipo do solo, vegetação e estações chuvosas favorecem o desenvolvimento, reprodução e a sobrevivência dos nematóides.

Os nematóides fitoparasitos têm sido responsabilizados por uma significativa parcela de danos e perdas em diversas culturas no mundo, provocadas pela destruição do sistema radicular (AGROBYT, 2008).

Diversas espécies de fitonematóides têm sido identificadas associadas às raízes e ao solo da rizosfera de plantas de bananeira. Entretanto, o nematóide

cavernícola *Radopholus similis* (Cobb) Thorne é considerado o mais importante fitonematóide da banana por causar graves danos à cultura, podendo em alguns casos inviabilizar o seu cultivo (COSTA *et al.*, 1998).

O nematóide cavernícola da bananeira foi encontrado no Brasil em 1959, a partir de mudas oriundas do litoral de São Paulo (CARVALHO, 1959). Mais de 40 anos após esse relato, ainda ocorre ampla disseminação deste fitoparasito para outras regiões produtoras no Brasil, sendo a bananeira uma ótima hospedeira deste nematóide e de outros importantes fitonematóides (COSTA *et al.*, 1998). A cultura onde este fitonematóide exerce maior parasitismo é a bananeira e citros. No entanto, este possui uma série de plantas hospedeiras de interesse ornamental e agrícola (CARES e ANDRADE, 2006).

Cerca de 146 espécies de nematóides já foram relatadas associadas à rizosfera da bananeira (*Musa* spp.). Contudo, apenas *Radopholus similis* e diversas espécies de *Meloidogyne* Goeldi, *Helicotylenchus* Steiner, *Pratylenchus* Filipjev e *Rotylenchulus* Linford & Oliveira, causam perdas significativas em bananais (GOWEN e QUÉNÉHERVÉ, 1990). Segundo Ritzinger *et al.*, (2007), estudos realizados em propriedades rurais no pólo Petrolina-PE/Juazeiro-BA, constataram que os fitonematóides mais freqüentemente associados ao sistema radicular da bananeira são: *Helicotylenchus* sp.; *Meloidogyne* spp., *Rotylenchulus reniformis* e *Radopholus similis*.

*Radopholus similis* causa danos a bananeira nas regiões tropical e subtropical, na maioria dos países produtores. Tem causado grandes prejuízos no Estado de São Paulo e no Rio de Janeiro e demais regiões do país, onde este se encontra amplamente disseminado (COSTA, 2000). Esta espécie de nematóide também ocorre em várias outras regiões bananicultoras do país, devido principalmente ao plantio de mudas contaminadas (RITZINGER e COSTA, 2004). É um endoparasito migrador, que se alimenta e multiplica no interior das raízes e rizoma da bananeira, causando lesões nesses órgãos e redução do volume radicular (COSTA *et al.*, 1998). Seu principal dano econômico deriva das necroses radiculares, que resultam no enfraquecimento do seu poder de sustentação mecânica, que se faz notar principalmente após a emissão do cacho. Sob tensão,

as raízes infestadas com *R. similis* acabam rompendo e permitindo o tombamento do pseudocaule, resultando na maioria das vezes, na perda do cacho, pouco perfilhamento e morte das plantas (GOWEN e QUÉNÉHERVÉ, 1990; PINOCHET, 1986). Com a evolução do processo de infestação da muda e tombamento, o parasita pode voltar ao solo à procura de novas raízes ou permanecer em pedaços de rizoma no campo, podendo sobreviver sem alimento, apenas com reservas de seu próprio organismo por pouco menos de seis meses (ROSSI, 2008).

Segundo Costa (2000), as plantas infectadas apresentam-se amareladas e os cachos, quando ocorrem, apresentam frutos pouco desenvolvidos. O sistema radicular é reduzido e ao longo do rizoma observam-se necroses castanho-avermelhadas, com a coalescência das lesões resultando em cavidades maiores (cavernas), o que leva à denominação de “nematóide cavernícola”. Altas infestações de *R. similis* provocam rachaduras ao longo das raízes. Esses danos podem ser agravados por fatores externos como doenças e estresses ambientais e podem também facilitar a penetração de outros patógenos (GOMES e CAMPOS, 2008).

Em casos de baixa infestação pelo nematóide, este causa redução na longevidade e vigor da planta, com menor massa nos cachos e a conseqüente diminuição da produção de frutos. Com altas infestações, as plantas não se desenvolvem, as folhas ficam pequenas, o cacho não atinge a massa ideal, o sistema radicular apresenta-se pobre em raízes e com raízes curtas, permitindo o tombamento da planta por ventos fortes ou pela massa do cacho (SANTOS, 2007).

A espécie *R. similis* apresenta-se com juvenis e adultos vermiformes, com ciclo de vida completado ao redor de 20 a 25 dias, a temperatura de 24 a 32° C, com fêmeas colocando em média, 4 a 5 ovos por dia no solo e, principalmente, no sistema radicular, durante duas a três semanas. Os ovos são colocados isoladamente. Somente os estádios juvenis e as fêmeas são infestantes, enquanto que os machos não parasitam as plantas. A reprodução é predominantemente anfimítica. O estilete do macho é atrofiado e, desta forma, não é considerado

parasita, apresentando aparelho digestivo degenerado. As fêmeas possuem esôfago completo e forte estilete (COSTA, 2000). A temperatura ideal de reprodução deste nematóide ocorre aos 30°C, sendo que acima de 33°C e abaixo de 16°C, não é observada reprodução (ELBADRI, 2000).

No Brasil, além da bananeira, *R. similis* já foi constatado nas seguintes espécies: *capim-assu* (*Andropogon minarum*, (Ness) Kunth), café, cenoura, banana-ornamental, fruta-do-conde (*Annona squamosa* L. e *Rollinia deliciosa* Saff.), maria-pretinha (*Solanum nigrum* L.), cacau, caupi e milho (COSTA-MANSO *et al.*, 1994).

De acordo com Araya *et al.*, (2002) comunidades poliespecíficas de nematóides são comuns na Costa Rica e consistem da mistura de *R. similis*, *Helicotylenchus multincinctus*, *H. dihystra*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus* spp. e, raramente, *Rotylenchulus reniformis*. Analisando 60.032 amostras de raízes durante o período de 1995 a 1999, estes autores constataram que *R. similis* foi o mais abundante, representando 82-86% do total de nematóides recuperados nas amostras.

Atualmente, a estratégia de controle de fitonematóides mais utilizada é o controle químico com o uso de nematicidas sintéticos (BRIDGE, 2000). No entanto, sabe-se que o uso indiscriminado de nematicidas, além de onerar a produção, coloca em risco a saúde dos aplicadores e consumidores, podendo exercer forte pressão de seleção sobre os organismos presentes no solo, selecionando formas mais resistentes ao produto químico.

A utilização de variedades resistentes é a melhor forma de controlar pragas e doenças (ELSEN *et al.*, 2002). Contudo, no caso de nematóides, são poucas as variedades resistentes disponíveis para o agricultor e a resistência geralmente é direcionada a umas poucas espécies de nematóides considerados mais importantes para determinadas culturas de importância econômica.

Trabalhos desenvolvidos por Costa (2004) revelaram a ocorrência de grande variabilidade patogênica nas populações de *R. similis* em genótipos de bananeira diplóides (AA) e triplóides (AAA), com diferentes graus de resistência. Independentemente do genótipo, a infecção causada pelas diferentes populações

de *R. similis* refletiu-se nas variáveis altura de plantas, peso da parte aérea e do sistema radicular. Uma relação positiva foi observada entre o número de nematóides por grama de raiz e o efeito mais severo sobre a redução da altura das plantas e do peso das raízes, quando comparados aos das plantas-controle.

Considerando a variabilidade encontrada em populações de *R. similis*, a resistência não pode ser considerada como sendo a única solução dos problemas causados por pragas, mas deve ter um papel importante no manejo em diversos sistemas de produção (GONZALES-RODRIGUEZ *et al.*, 1997; STARR *et al.*, 2002).

A utilização de mudas de bananeira propagadas *in vitro* constitui-se numa estratégia de controle eficiente em áreas virgens, garantindo a isenção das doenças nos primeiros anos de cultivo. Entretanto, o trânsito de máquinas e implementos, veículos e embalagens utilizados no transporte dos frutos nas lavouras e o uso de mudas infectadas promovem a disseminação desses nematóides (STEPHENS, 1995).

Dentre as estratégias de controle, o biocontrole vem surgindo como uma alternativa racional, com elevada demanda e essencial à agricultura na atualidade. Seu uso reduz a poluição do meio ambiente, o risco de contaminação do homem, dos animais e do produto agrícola, podendo contribuir para a preservação dos recursos naturais e a sustentabilidade dos agroecossistemas (COIMBRA e CAMPOS, 2005).

No solo e substratos orgânicos de crescimento de plantas, ocorre normalmente uma população elevada de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e algas. Entretanto, as bactérias são o tipo mais abundante, devido ao seu rápido crescimento e a habilidade de utilizar uma ampla gama de compostos como fonte de carbono e nitrogênio. Esse fato, aliado ao suprimento constante de compostos orgânicos exsudados pelas raízes, possibilita a ocorrência, na rizosfera, de uma ampla e diversificada população bacteriana (GLICK, 1995).

Metabólitos produzidos por microrganismos no meio em que crescem são conhecidos há muito tempo (YABROUGH *et al.*, 1993). Esses compostos podem

agir no controle do crescimento de microrganismos, por diversos mecanismos, como por exemplo, por antibiose promovida por antibióticos produzidos por rizobactérias (KEEL *et al.*, 1990). Produtos naturais também tem sido fonte de compostos para o controle de pragas e doenças (ISMAN, 2000).

A indústria tem explorado comercialmente substâncias metabólicas produzidas por fungos e bactérias (NARDO e CAPALBO, 1998). Substâncias produzidas *in vitro* por fungos e bactérias têm sido reportadas inibindo a eclosão, afetando a motilidade e causando a mortalidade em fitonematóides (COSTA *et al.*, 2001; SOUSA *et al.*, 2006).

Dentre os agentes de controle biológico com potencial para o controle de nematóides, os actinomicetos têm sido muito estudados (SOUSA *et al.*, 2006). Actinomicetos são um grupo de bactérias gram-positivas que formam filamentos ramificados e possuem características de bactérias e fungos (BOREM, 1998). Estes são importantes produtores de compostos bioativos e possuem grande potencial como agentes de controle de fitopatógenos, visto que 85% dos antibióticos conhecidos são produzidos por esses microrganismos (GOTTLIEB, 1973). Estes microrganismos produzem antibióticos, enzimas e inibidores enzimáticos de interesse industrial (WILLIANS e VICKENS, 1986). Na agricultura, a avermectina produzida pelo actinomiceto *Streptomyces avermitilis* (Burg) Kim & Goodfellow (STRETTON *et al.*, 1987), possui efeito nematicida já testado no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofold & White) Chitwood, *Hoplolaimus galeatus* (Cobb) Thorne, *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb), *Tylenchorhynchus dubius* (Bütschli) Filipjev e *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Filipjev (GARABEDIAN e VAN GUNDY, 1983; BLACKBURN *et al.*, 1996).

Uma serie de trabalhos desenvolvidos com plantas do gênero *Tagetes*, família Asteraceae, conhecido popularmente como cravo-de-defunto, e com a *Crotalaria* tem demonstrado a sua eficácia para controlar fitonematóides e um considerável número de trabalhos de pesquisa tem sido conduzidos nesta área (NAGANATHAN *et al.*, 1988, FABRY *et al.*, 2007).

Populações de *Radopholus similis* e *Pratylenchus coffeae* foram reduzidas nas raízes de banana quando consorciada, por quatro meses, com *Tagetes* sp.,

*Medicago sativa*, *Crotalaria juncea* ou *Coriandrum sativum* (NAGANATHAN *et al.*, 1988).

Quando a cultura da banana foi consorciada com seis fileiras de *T. erecta* ou *T. patula*, as populações de *Meloidogyne*, *Radopholus* e *Pratylenchus* diminuíram e as raízes foram menos danificadas (SUPRATOYO, 1993).

Estudos da rizosfera de plantas antagonistas também foram realizados por Kloepper *et al.* (1991). Os autores observaram que o número de isolados eficientes no controle dos fitonematóides foi de 4 a 6 vezes maior entre aqueles provenientes das plantas antagonistas do que de soja, a espécie suscetível.

Para aumentar as chances de obtenção de rizobactérias eficientes no controle de fitopatógenos, deve-se obtê-las de plantas reconhecidamente antagonistas aos nematóides parasitas de culturas comerciais. Segundo Kloepper *et al.* (1991;1992), isolamentos de raízes destas plantas podem aumentar em até seis vezes as chances de se encontrar bons candidatos em testes *in vivo*.

As rizobactérias têm uma série de vantagens sobre os nematicidas ou mesmo sobre outros agentes de controle biológico: são fáceis de serem produzidas em massa; são de fácil armazenamento; são adaptáveis à tecnologia de formulação e não requerem manipulação genética (SIKORA e HOFFMANN-HERGATEN, 1992). As rizobactérias podem ser aplicadas via tratamento do substrato de produção de mudas, imersão das raízes de mudas em suspensões bacterianas, rega das plantas com a suspensão bacteriana, imersão das sementes na suspensão de rizobactérias ou peletização em alginato das sementes com rizobactérias.

Alem de produzirem metabólitos tóxicos aos fitonematóides, as rizobactérias podem ser benéficas para o crescimento das plantas, sendo estas denominadas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR - Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) (KLOEPPER *et al.*, 1989) ou como bactérias capazes de incrementar a produção (YIB - Yield-Increasing Bacteria) (PIAO *et al.*, 1992), as quais têm demonstrado potencial para o desenvolvimento de sistemas sustentáveis de produção agrícola (PAN *et al.*, 1999).

A promoção de crescimento pode ocorrer de formas indiretas ou diretas (ALVEREZ *et al.*, 1995). As rizobactérias podem reduzir ou prevenir os efeitos negativos de um ou mais microrganismos patogênicos e/ou deletérios ao crescimento de plantas (DELGADILLO *et al.*, 2001), causar indução de resistência sistêmica (ROMEIRO, 1999), promover a mineralização de nutrientes (SILVEIRA, 2001), a destoxificação do solo (FERRO *et al.*, 1994), produzir antibióticos (FRAVEL, 1998), enzimas (GLICK *et al.*, 1995), a exemplo da quitinase (GOMES *et al.*, 2000), ácido cianídrico (HCN) (LUZ, 1996), promover a solubilização de fosfato (MELO, 1998) e a fixação biológica de nitrogênio (GRIMES e MOUNT, 1984). O efeito direto na promoção de crescimento de plantas ocorre a partir do fornecimento de compostos que atuam como reguladores de crescimento da planta ou que facilitam a absorção de nutrientes (GLICK, 1995).

A utilização de PGPRs, diretamente ou indiretamente, teria a vantagem de diminuir a utilização de insumos químicos, com benefícios tanto de ordem econômica quanto de ordem ecológica, uma vez que tais produtos geram, freqüentemente, problemas de contaminação ambiental.

O controle biológico é hoje, uma alternativa muito procurada e valorizada, principalmente para o controle de patógenos do solo, os quais são de difícil controle e os produtos químicos não têm demonstrado boa eficiência. Além disso, os produtos químicos apresentam riscos de poluição do meio ambiente, contaminação do homem e animais, enquanto que o controle biológico é considerado uma alternativa de menor risco e com maior aceitação e grande procura por produtores, profissionais da área agrícola e todos os que se preocupam com as questões de impacto e conservação do meio ambiente. As estratégias prioritárias de manejo de fitonematóides são aquelas que diminuem os custos de produção agrícola, aumentam a produção e não agredem o ambiente. Desta forma, o uso de actinomicetos e outras rizobactérias como agentes de biocontrole do nematóide *Radopholus similis* deve ser estudado e explorado como uma alternativa para o controle deste nematóide.

Assim, os objetivos desse trabalho foram: quantificar as populações totais de bactérias na rizosfera de plantas de banana FHIA 18; caracterizar os isolados

quanto à produção de enzimas extracelulares; avaliar o potencial destes isolados na promoção de crescimento de mudas de bananeira cv. William e avaliar o efeito de metabólitos secundários produzidos pelos actinomicetos na mortalidade do nematóide cavernícola *Radopholus similis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROBYT. Disponível em: <http://www.agrobyte.com.br/nemat%C3%B3ides.htm> .  
Acesso em: 31 de março de 2008.

ALVEREZ, M. A. de B.; GAGNÉ, S.; ANTOUN, H. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Oxford, n.1, v.61, p. 194-199. 1995.

ARAYA, M; CENTENO, M. Recuperación de *Radopholus similis*, *Helicopylenchus spp.*, *Meloidogyne spp.*, y *Pratylenchus spp* de raíz de banano funcional, no funcional y combinada. **Corbana**, v.20, n.43, p.11-17, 2002.

BLACKBURN, K., ALM, S.R.; YEH, T.S. Avermectin B1, izafox, and fenamiphos for control of *Hoplolaimus galeatus* and *Tylenchorhynchus dubius* infesting *Poa annua*. **Journal of Nematology**, v. 48, p. 687-694, 1996.

BOREM, A. **Pequeno glossário de termos agronômicos**. Viçosa: A. Borém. 1998.169p.

BRIDGE, J. Keynote: Nematodes of bananas and plantains in Africa: research trends and management strategies relating to the small scale farmer. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.540, p.391-408, 2000.

CARES, J. E.; ANDRADE, E. P. **Taxonomia do gênero *Radopholus***. Revisão Anual de Patologia de Plantas. v.14, p.113-149, 2006.

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

CHRISTIE, J. **Nematodos de los vegetales; su ecologia y control**. Mexico, D.F., Limusa, S.A. p.275, 1986.

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

COSTA, D. C.; SILVA, S. O.; ALVES, F. R. Reação dos genótipos de bananeira (*Musa* spp.) a *Radopholus similis* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia brasileira**, v. 22, n. 2, p. 49-57, 1998.

COSTA, D. C. **Nematoses em banana e abacaxi no Brasil: danos e manejo**. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Uberlândia, v.22, p.50-58, 2000.

COSTA, M.J.N.; CAMPOS, V.P.; PFENNING, L.H.; OLIVEIRA, D.F. Toxicidade de filtrados a *M. incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.749-755, 2001.

COSTA, D. C. **Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em bananeira no Brasil**. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília. 2004.

COSTA-MANSO, E. S. B. G.; TENENTE, R. C. V.; FERRAZ, L. C. C. B.; OLIVEIRA, R. S.; MESQUITA, R. **Catálogo de nematóides fitoparasitos encontrados associados a diferentes tipos de plantas no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, p. 488, 1994.

DELGADILLO, R. J. ET AL., Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. **Avace y perspectiva**, v. 20, p. 395-399, 2001.

DEMUNER, A. J.; LONGUE, F. M.; BARBOSA, L. C. A. Síntese e avaliação da atividade nematicida de derivados da piperazina. **Eclética Química**, São Paulo, v.26, p.11-24, 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010046702001000100001&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010046702001000100001&lng=pt&nrm=iso) . Acesso em: 26 Mar 2008.

DIAS, M.S.C.; RIBEIRO JUNIOR, P.M. **Nematóides na bananicultura** In: Simpósio Norte Mineiro sobre a Cultura da Banana. Montes Claros: Ed. Unimontes, p. 168-179, 2001.

ELBADRI, G. A. **Diversity of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) (Nematoda: Tylenchida)**. Thesis. Faculty of Sciences, University of Gent. p.146, 2000.

ELSEN, A.; STOFFELEN, R.; TUYET, N. T.; BAIMEY, H.; BOULOIS, H. D. & WAELE, D. *In vitro* screening for resistance to *Radopholus similis* in *Musa* spp. **Plant Science**, v.163, p.407- 416, 2002.

FABRY, C.F.S., FREITAS, L.G., NEVES, W.S., COUTINHO, M.M., TÓTOLA, M.R., OLIVEIRA, J.R., DALLEMOLEGIARETTA, R. & FERRAZ, S. Obtenção de bactérias para o biocontrole de *Meloidogyne javanica* por meio de aquecimento de solo e tratamento com filtrado de raízes de plantas antagonistas a fitonematóides. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.079-082, 2007.

FAO. Base de Datos Estadísticos, 2005. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=740](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=740)>. Acesso em 26 de março de 2008.

FERRO, A. M.; SIMS, R. C.; BUGBEE, Hycrest crested wheatgrass accelerated the degradation of pentachlorophenol in soil, **Journal of Environmental Quality**, v. 23, p. 272-279, 1994.

FRAVEL, D. R. Role of antibiotics in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, p. 75-91, 1998.

GARABEDIAN, S. & VAN GUNDY, S.D. Use of avermectin for the control of *Meloidogyne incognita* on tomatoes. **Journal of Nematology**, v.15, p.503-510, 1983.

GLICK, B.R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v.41, p.109-117, 1995.

GOMES, R. C.; SEMEDO, L. T. A. S.; SOARES, R. M. A.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potencial in biocontrol. **Applied Microbiology**, v.30, p.146-450, 2000.

GOMES, C. B.; CAMPOS, A. D. **Doenças causadas por nematóides na cultura do pessegueiro: sistema de produção**, 2007. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/nemato.htm> . Acesso em: 31 mar 2008.

GONZÁLES-RODRIGUEZ, J.B.; VENTURA-MARTÍN, J.DE LA C.; RODRIGUEZ-MORALES, S.; GALVEZ GUERRA, J.R.; JACOMINO, M. The behavior of clones of *Musa* spp. with regard to nematodes in Cuba. **Infomusa**, Montpellier, v.6, p.32-35, 1997.

GOTTLIEB, D. General consideration and implications of the actinomycetales. In: SYKES, G.; SKINNER, F.A. (Eds.). **Actinomycetales: Characteristics and practical importance**. London: Academic Press. p.1-10, 1973.

GOWEN, S., QUÉNÉHERVÉ, P. Nematode parasites of bananas, plantains and abaca. In: LUC, M., SIKORA, R.A., BRIDGE, J. (eds.) **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International. P. 431-60, 1990.

GRIMES, H. D.; MOUNT, M. S. Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.16, p.27-30. 1984.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.

KEEL, C., WIRTHNER, P.H., OBERHANSLI, T.H., VOISARD, C., BURGER, U., HAAS, D.; DEFAGO, G. Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: role of antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot of tobacco. **Symbiosis**, v. 9, p.327-342, 1990.

KLOEPPER, J. W., RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., McINROY, J.A., YOUNG, R.W.. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. **Plant and Soil**, v.139, p.75-84, 1992.

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

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. **Trends Biotechnology**, v.7, p.39-43, 1989

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

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, p.87-110, 1998.

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

NAGANATHAN, T. G., R. ARUMUGAM, M. KULASEKARAN.; S. VADIVELU. Effect of antagonistic crops as intercrops on the control of banana nematodes. **South Indian Horticulture**, v. 36, p. 268-269, 1988.

NARDO, E.A.B. & CAPALBO, D.M.F. O processo de avaliação de risco do uso de agentes microbianos de controle: testes ecotoxicológicos sobre organismos não visados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.59, p.63-68, 1998.

PAN, B.; BAI, Y. M.; LEIBOVITCH, S.; SMITH, D. L. Plant-growth-promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short-growing-season area. **European Journal of Agronomy**, v.11, p.179-186, 1999.

PIAO, C.G.; TANG, W.H.; CHEN, Y.S. Study on the biological activity of yield-increasing bacteria. **Journal of Microbiology**, v.4, p.55-62, 1992.

PINOCHET, J.A. A note on nematode control practices on bananas in Central America. **Nematropica**, v.16, p.197-203, 1986.

RITZINGER, C. H. S. P.; BORGES, A. L.; LEDO, C. A. S.; CALDAS, R. C. Fitonematoides associados a bananais 'Pacovan' sob condição de cultivo irrigado: relação com a produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, 2007.

RITZINGER, C.H.S.P.; COSTA, D. da C. Nematóides e alternativas de manejo. In: BORGES, A.L.; SOUZA, L. da S. (Ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. p.183-194, 2004.

ROMEIRO, R. da S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: UFV. (Cadernos didáticos, 56), p.45, 1999.

ROSSI, C, E. Nematóides da Bananeira. In: [≤www.biologico.sp.gov.br/rifib/VIRifib/rossi.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/rifib/VIRifib/rossi.pdf) >. > Acesso em: 14 de abril de 2008.

SANTOS, J. R. P. **Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD**. Tese (Mestrado). Universidade de Brasília. Brasília, 2007.

SIKORA, R.A.; HOFFMANN-HERGATEN, S. Importance of plant health-promoting rhizobacteria for the control of soil-borne fungal diseases and plant parasitic nematodes. **Arabic Journal of Plant Protection**, v.10, n.1, p. 53-48, 1992.

SILVEIRA, E. B. Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontrole de doenças. In: MICHEREFF, S.; BARROS, R. (Eds.). **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE. p. 71-100, 2001.

SOUSA, C. S., SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; ALMEIDA, G. M. C. O. Estreptomicetos no controle de meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1759-1766, 2006.

STARR, J.L.; BRIDGE, J.; COOK, R. Resistance to plant-parasitic nematodes: history, current use and future potential. In: STARR, J.L.; COOK, BRIDGE, J.

(Eds.). **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International. p. 1-22, 2002.

STEPHENS, C.S. Banana Nematodes: Past, Present and Future. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, Caldas Novas - GO, **Proceedings**: p.172-175, 1995.

STRETTON, A.O.W., CAMPBELL, W.C. & BABU, J.R. Biological activity and mode of action of avermectins. In: Veech, J.A., Dickson, D.W. (Eds.) **Vistas on Nematology**: A Commemoration of the Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists. p.136-146, 1987.

SUPRATOYO, M. Studies on the effect of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula* for controlling plant parasitic nematodes on banana. **Ilmu Pertanian**, v. 5, p. 681-691, 1993.

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

VIGLIECHIO, D.R. (Ed.). **The World of Nematodes**: a fascinating component of the animal kingdom. University of California: Davis, CA. p.266, 1991.

WILLIAMS, S.T.; VICKERS, J.C. The ecology of antibiotic production. **Microbiology Ecology**, New York, v.12, p.43-52, 1986.

YARBROUGH, G.G., TAYLOR, D.P., ROWLANDS, R.T., CRAWFORD, M.S. & LASURE, L.L. Screening microbial metabolites for new drugs: theoretical and practical issues. **The Journal of Antibiotics**, v.46, p.535-544, 1993.

## **CAPÍTULO 1**

### **ACTINOMICETOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE BANANEIRA <sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Artigo submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## ACTINOMICETOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE BANANA

Autora: Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivos estudar a densidade populacional de bactérias totais e actinomicetos da rizosfera de bananeira, isolar os actinomicetos, caracteriza-los quanto à capacidade de produção de enzimas extracelulares (celulase, xilanase e quitinase) e avaliar o seu potencial para a promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira. A densidade populacional para bactérias totais foi de  $8,60 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> de solo e  $1,90 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> de raiz e, para actinomicetos, foi de  $5,25 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> de solo e  $1,44 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> de raiz, no plantio de bananeira cv FHIA 18. Os testes *in vitro* indicaram que, do total de 46 actinomicetos isolados, 29 apresentaram atividade celulolítica, 20 atividade xilanolítica e 3 atividade quitinolítica. A inoculação e incubação do substrato Plantmax-Horta® com diferentes actinomicetos proporcionou incrementos significativos no crescimento das mudas de bananeira, nos dois experimentos conduzidos. No primeiro, foram obtidos incrementos de até 46,2% na altura das mudas, 65,5% no diâmetro do pseudocaule, 283,6% para matéria seca da parte aérea e 447,5% para matéria seca da raiz. No segundo experimento também foram obtidos resultados significativos de promoção de crescimento. Este trabalho demonstra o efeito benéfico de actinomicetos no crescimento de mudas de bananeira, que depende do isolado testado.

**Palavras-chave:** Promoção de crescimento, *Musa* sp., actinomicetos.

## ACTINOMYCETES AS GROWTH PROMOTERS OF BANANA PLANTS

Author: Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão

Adviser: Ana Cristina Fermino Soares

**ABSTRACT:** This work aimed to study the population densities of total bacteria and actinomycetes from rhizosphere soil and roots of banana plants, to isolate actinomycetes and characterize them for their capacity to produce extracellular enzymes (celulase, xylanase and chitinase), and to study their potential to promote growth of micropropagated banana plants. The population density for total bacteria was  $8.60 \times 10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> of soil, and  $1.90 \times 10^8$  CFU.g<sup>-1</sup> of roots, and for actinomycetes was  $5.25 \times 10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> of soil, and  $1.44 \times 10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> of roots, at a banana orchard of cv FHIA 18. The in vitro tests showed that of the 46 actinomycetes isolated, 29 presented celulase activity, 20 presented xylanase activity, and 3 presented chitinase activity. The inoculation and incubation of the plant growth organic mixture Plantmax-Horta® with different actinomycete isolates, promoted significant increments in growth of banana plants, in two experiments. For the first experiment, increments of up to 46.2% were obtained in plant height, 65.5% in stem diameter, 283.6% in dry weight of plant aerial parts, and 447.5% for root dry weight matter. Significant results of growth promotion were also obtained in the second experiment. This work demonstrates the beneficial effect of actinomycetes in the growth of banana plants, which depends on the isolate tested.

**Keywords:** Promotion of growth, *Musa* sp., Actinomycetes.

## INTRODUÇÃO

A bananeira é uma planta herbácea, do gênero *Musa*, de grande valor econômico e social no Brasil, por gerar muitos empregos, além de ser uma importante fonte de alimento (COSTA, 2004).

No entanto, a cultura apresenta diversos problemas fitossanitários como a susceptibilidade às sigatocas amarela e negra, ao Mal do Panamá, ao Moko da bananeira e a nematóides, destacando-se o nematóide cavernícola *Radopholus similis* (COSTA, 2000). Estes problemas fitossanitários têm gerado grandes prejuízos para o produtor, chegando a inviabilizar o cultivo da bananeira em algumas propriedades (COSTA, 2000).

Como o controle químico é oneroso e pode gerar problemas ambientais e riscos à saúde do homem e animais, o controle biológico se insere como uma importante alternativa, que necessita de ser mais estudada e explorada no setor agrícola. Aliado ao uso de mudas micropropagadas, que são consideradas um material propagativo livre de patógenos, a utilização de microrganismos com potencial de controle de fitopatógenos e/ ou promoção de crescimento de plantas, pode proporcionar ao agricultor, mudas de melhor qualidade fitossanitária, com maior capacidade de sobrevivência no campo, maior vigor e resistência ao ataque de patógenos nos primeiros estádios de desenvolvimento e, quando comparadas às mudas convencionais (ALVES *et al*, 2005).

Dentre os potenciais agentes de controle biológico e promoção de crescimento de plantas, os actinomicetos constituem um importante grupo de bactérias comumente isoladas do solo, conhecidos por sua ampla capacidade de produção de metabólitos secundários, entre eles os antibióticos, enzimas extracelulares e inibidores enzimáticos. Estes microrganismos têm várias aplicações em diversas áreas, entre elas a agricultura, onde atuam na promoção de crescimento de plantas e controle de fitopatógenos (BLACKBURN *et al.*, 1996).

Segundo Silva, (2007) estudos de promoção de crescimento com 63 isolados de rizobactérias em mudas de cacaueteiro, demonstraram incrementos significativos na altura da planta, matéria seca da parte aérea e matéria seca da

raiz. Trabalhos realizados por Sousa *et al.*, (2006) com isolados de estreptomicetos em mudas de tomateiro, demonstraram o potencial destes microrganismos como agentes de biocontrole de doenças e promoção do crescimento de plantas.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos isolar e quantificar a população de bactérias totais e de actinomicetos da rizosfera de plantas de bananeira, caracterizar os actinomicetos quanto à capacidade de produção de enzimas extracelulares e avaliar o potencial desses microrganismos na promoção de crescimento de mudas de bananeira.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Isolamento de actinomicetos de solo e raiz**

Para o isolamento e quantificação das populações de rizobactérias e actinomicetos, foram coletadas amostras de solo e raízes de plantas de bananeira FHIA 18, cultivar tetraplóide AAAB, no campo experimental da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas, Bahia. Foram coletadas cinco amostras de solo e de raízes com solo rizosférico na área da projeção da copa de bananeiras FHIA 18, a uma profundidade de 0 a 30 cm da superfície do solo. Isolados de actinomicetos foram obtidos também da rizosfera de plantas de cravo-de-defunto (*Tagetes* sp) e crotalária (*Crotalaria juncea*), plantados

Para a quantificação de actinomicetos e bactérias totais, amostras de 10 g de raízes e de 10 g de solo rizosférico foram transferidas para frascos de Erlenmeyer com 90 ml de solução salina (NaCl a 0,85 %) estéril e agitadas por 30 minutos em agitador orbital à temperatura ambiente. Em seguida, foram realizadas diluições decimais em série (1:10), em tubos de ensaio contendo 9 ml da solução salina estéril, obtendo-se diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ .

Foi realizado o plaqueamento de 100  $\mu$ l das diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$  em meio AGS sólido (*Arginine-Glycerol-Mineral Salt Agar*) para actinomicetos e em meio Nutriente Ágar (NA) (LEVINE, 1954) para bactérias totais, com três repetições

para cada diluição, sendo o inóculo espalhado com alça de Drigalsky. O meio AGS é constituído de: 1g de L-arginina; 12,5mL de glicerol; 1g de  $K_2HPO_4$ ; 1g de NaCl; 0,5g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1ml de solução de micronutrientes; 20g de agar em 1 litro de água destilada, com pH ajustado para 7,2. A solução de micronutrientes continha: 1g de  $Fe_2(SO_4)_3 \cdot (6H_2O)$ ; 0,1g de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ; 0,1g de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  e 0,1g de  $MnSO_4 \cdot H_2O$  em 100 mL de água destilada. Ambos os meios de cultura receberam ciclohexamida na concentração de 100  $\mu g/ml$ . Para o crescimento de actinomicetos, as placas foram incubadas por 12 a 20 dias a  $28 \pm 2^\circ C$  em câmara de crescimento tipo B.O.D. e para o crescimento de bactérias totais as placas foram incubadas a temperatura de  $28 \pm 2^\circ C$  por 48 horas.

As populações de actinomicetos e bactérias totais no solo e nas raízes foram estimadas pela contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), com base na seguinte formula:  $UFC \cdot g^{-1} = N \times 10 \times F \times Y$ , sendo: N = número de colônias, F = 10 (fator de correção do plaqueamento de 100  $\mu l$  de suspensão por placa para 1 ml de suspensão), Y = fator de diluição da amostra. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), sendo realizada a análise de variância e, em seguida, a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

As colônias individualizadas de actinomicetos foram repicadas para meio AGS. Estes isolados foram transferidos para tubos criogênicos contendo glicerol-água 20%, estéril, e mantidos a temperatura de  $-20^\circ C$  para a preservação das culturas.

A mesma metodologia foi utilizada para isolamento de bactérias e actinomicetos de solo rizosférico e rizoplano de crotalária (*Crotalaria juncea*) e cravo de defunto (*Tagetes* sp.), plantados em vasos e mantidos em casa de vegetação).

### **Caracterização fisiológica dos actinomicetos**

Foi avaliada a presença da atividade xilanolítica, celulolítica e quitinolítica de 46 isolados de actinomicetos, codificados como: AC1, AC2, AC7, AC8, AC11,

AC12, AC13, AC15, AC16, AC17, AC18, AC19, AC20, AC21, AC22, AC23, AC24, AC25, AC26, AC27, AC28, AC29, AC30, AC31, AC32, AC33, AC34, AC35, AC36, AC37, AC38, AC39, AC40, AC41, AC42, AC43, AC44, AC45, AC46, AC47, AC48, AC49, AC50, AC51, AC52 e AC66. Estes foram isolados de solo e de raízes de bananeira FHIA 18, cravo-de-defunto e crotalária, no município de Cruz das Almas, Bahia, conforme descrito anteriormente.

### **Produção de Xilanase e Celulase**

As atividades enzimáticas foram determinadas conforme metodologia descrita por Lewis (1988). Os isolados foram multiplicados em meio mínimo de sais (TUIE, 1969), suplementado com 1g de xilana (Sigma) ou celulose microcristalina (Vetec) como única fonte de carbono e incubadas em câmara tipo B.O.D. ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ), durante aproximadamente 15 dias. Após este período, foram adicionados 10 mL da solução aquosa de vermelho congo a 0,5 %, em cada placa, seguido de incubação a temperatura ambiente por 15 minutos. Após a incubação, foi removido o excesso da solução de vermelho congo e adicionados 10 ml da solução salina (NaCl a 1 M) em cada placa, sendo estas mantidas a temperatura ambiente por 30 minutos. Após a remoção da solução salina, observou-se a formação ou não de halo de coloração alaranjada em torno das colônias, indicando a atividade celulolítica e xilanolítica dos isolados.

### **Produção de Quitinase**

Para detectar a produção de quitinase pelos isolados de actinomicetos, utilizou-se a metodologia descrita por Renwick *et al.* (1991). Os actinomicetos foram multiplicados em meio mínimo de sais (TUIE, 1969), suplementado com quitina coloidal (HSU e LOCKWOOD, 1975) como única fonte de carbono. As culturas foram incubadas em câmara B.O.D. ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 10 dias. Após este período, a atividade quitinolítica dos isolados foi detectada pela visualização de um halo hialino em torno das colônias crescidas.

### **Avaliação da capacidade de promoção de crescimento de mudas de bananeira pelos actinomicetos**

Para avaliar o efeito da inoculação e incubação do substrato Plantmax-Horta® com isolados de actinomicetos no crescimento de mudas de bananeira foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação. No primeiro experimento foram avaliados dezoito isolados de actinomicetos (AC12, AC13, AC15, AC17, AC20, AC21, AC24, AC26, AC30, AC34, AC38, AC40, AC42, AC43, AC46, AC47, AC48 e AC52) oriundos de solo rizosférico e raízes de bananeira FHIA 18, cravo-de-defunto e crotalária. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com dezenove tratamentos (dezoito isolados de actinomicetos e uma testemunha) com cinco repetições e uma planta por parcela. A testemunha foi composta por substrato Plantmax-Horta® incubado com água, sem inoculação com actinomiceto.

No segundo experimento foram avaliados sete isolados de actinomicetos provenientes de solo e raízes de bananeira FHIA 18 codificados como AC39, AC12, AC52, AC36, AC33, AC51 e AC30. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com oito tratamentos (sete isolados de actinomicetos e uma testemunha) com dez repetições e uma planta por parcela. A testemunha foi composta por substrato Plantmax-Horta® incubado com água, sem inoculação com actinomicetos.

Em ambos os experimentos, para obtenção do inóculo, os isolados de actinomicetos foram cultivados em meio AGS sólido por um período de 12 dias em câmara B.O.D. a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , sendo cada isolado de actinomiceto multiplicado em seis placas de Petri. Após este período, adicionou-se 10 ml de água estéril em cada placa e as colônias foram raspadas com o auxílio de uma alça de platina e ressuspendidas em água estéril para volume final de 50 ml. Cada suspensão de actinomiceto foi adicionada a 5 litros de substrato de produção de mudas (Plantmax-Horta®). Em seguida, esses substratos homogeneizados por agitação

em sacos plásticos e incubados por um período de 30 dias a temperatura ambiente, mantendo-se a umidade próxima da capacidade de campo, com a adição de água estéril.

Foi determinada a densidade populacional dos isolados de actinomicetos no substrato após o período de 30 dias de incubação. Para tanto, utilizou-se o método de diluição seriada e plaqueamento em meio AGS sólido, conforme descrito acima.

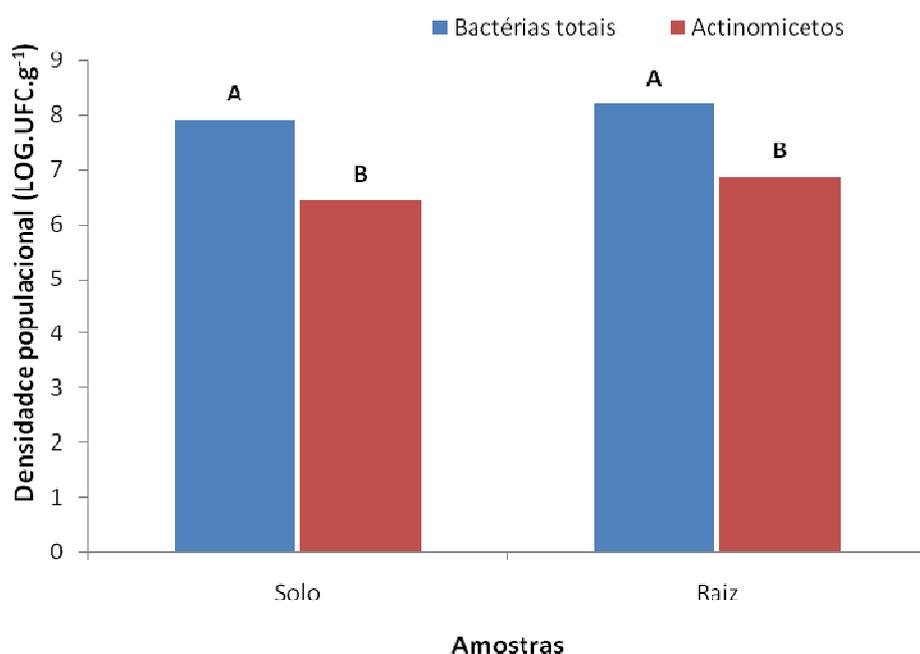
Após os 30 dias de incubação, o substrato foi distribuído em sacos pretos de polietileno (15 x 0,9 cm), colocando-se 1 litro de substrato por saco de muda. No primeiro experimento, mudas micropropagadas de bananeira cv. Williams, medindo entre sete e dez cm de altura, foram transplantadas para os sacos contendo o substrato, deixando uma muda por saco. As mudas foram mantidas em casa de vegetação por um período de 45 dias, sendo irrigadas diariamente com água potável. Após esse período, avaliou-se a altura e o diâmetro do pseudocaule na altura do colo das mudas. Em seguida, a parte aérea foi cortada e as raízes removidas do substrato e lavadas com água corrente. A parte aérea e raízes foram secas em estufa de secagem a 65°C por aproximadamente 72 horas, até obtenção de peso constante, para determinação do peso da matéria seca da parte aérea e da raiz. As médias foram comparadas pelo teste Scott & Knott a 1% de probabilidade pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

No segundo experimento, seguiram-se os mesmos procedimentos do primeiro. Entretanto, as mudas cv. Williams mediam cinco cm de altura e foram mantidas em casa de vegetação por um período de 70 dias. Após este período, avaliou-se a altura das mudas, diâmetro do pseudocaule na altura do colo e matéria seca da parte aérea e raízes das mudas. As médias foram comparadas pelo teste Scott & Knott a 1% de probabilidade pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Densidade populacional

Os valores obtidos para a densidade populacional de bactérias totais e de actinomicetos de solo e de raízes de banana FHIA 18, do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, no município de Cruz das Almas, Bahia, são apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Densidade populacional de bactérias totais e actinomicetos em solo e raízes de banana FHIA 18, no município de Cruz das Almas, Bahia. Diferenças significativas (Tukey,  $P \leq 0,05$ ) dentro de cada amostra são indicadas por letras diferentes. Valores médios de três repetições são apresentados.

Não foram encontradas diferenças populacionais significativas entre as amostras de solo e de raízes tanto para bactérias totais como para actinomicetos

( $P \leq 0,05$ ). Entretanto, verificou-se que a população de bactérias totais é mais elevada que a população de actinomicetos. A densidade populacional para bactérias totais foi de  $8,60 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> de solo e  $1,90 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> de raiz e para actinomicetos foi de  $5,25 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> de solo e  $1,44 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> de raiz.

Em geral, a influência da rizosfera sobre as populações de actinomicetos é menor do que sobre as populações das demais bactérias, visto que esses são microrganismos de crescimento lento com baixa capacidade competitiva (PEREIRA, 2000). O estudo de correlação entre a população de bactérias e actinomicetos nas amostras de solo e de raízes, indicou uma correlação positiva, porém não significativa.

### **Caracterização fisiológica dos actinomicetos**

Do total de 46 isolados de actinomicetos selecionados, 20 apresentam atividade xilanolítica, 29 apresentam atividade celulolítica e apenas três apresentam atividade quitinolítica (Tabela 1).

A xilana é o principal polímero constituinte do complexo hemicelulolítico. Microorganismos capazes de produzir xilanase são importantes nos processos de decomposição de compostos orgânicos, podendo agir na mineralização de nutrientes e no maior desenvolvimento das plantas (OLIVEIRA *et al.*, 2003). A celulose é um polímero abundante na biomassa dos vegetais, sendo degradado por inúmeros microorganismos produtores de celulase. Ao atacarem a molécula de celulose, os microorganismos a transformam em celobiose e glicose livre (MURASHIMA *et al.*, 2002). Dentre as importantes características dos actinomicetos, enumera-se a capacidade de degradação de moléculas complexas, especialmente a celulose, lignina e xilana, fazendo com que tenham um papel importante nos processos de compostagem (RAMÍREZ *et al.*, 2003). A quitina é um polissacarídeo presente na parede celular da maioria dos fungos fitopatogênicos, portanto a produção dessa enzima por parte dos isolados dos actinomicetos selecionados pode vir a ser um importante mecanismo de biocontrole (GOODAY *et al.*, 1992; GOMES *et al.*, 2000). A atividade xilanolítica,

**Tabela 1.** Produção de enzimas extracelulares, pelos isolados de actinomicetos.

Actinomicetos	Atividade Enzimática			Origem dos Isolados
	Xilanase	Quitinase	Celulase	
AC 1	-	-	-	Solo FHIA 18
AC 2	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 7	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 8	-	-	+	Solo FHIA 18
AC 11	++	-	-	Solo FHIA 18
AC 12	-	+	-	Solo Crotalaria
AC 13	+	-	++	Solo Crotalaria
AC 14	+	-	++	Solo Crotalaria
AC 15	-	-	++	Solo Crotalaria
AC 16	+	-	-	Solo FHIA 18
AC 17	+	-	++	Solo Crotalaria
AC 18	-	+	++	Raiz FHIA 18
AC 19	-	-	-	Solo FHIA 18
AC 20	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 21	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 22	-	-	-	Solo FHIA 18
AC 23	+	+	+	Raiz FHIA 18
AC 24	++	-	++	Solo FHIA 18
AC 25	-	-	+	Raiz FHIA 18
AC 26	+	-	+	Solo Cravo
AC 27	-	-	-	Solo FHIA 18
AC 28	-	-	+	Raiz FHIA 18
AC 29	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 30	-	-	++	Solo FHIA 18
AC 31	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 32	+	-	-	Raiz FHIA 18
AC 33	-	-	++	Solo FHIA 18
AC 34	+	-	+	Raiz Crotalaria
AC 35	+	-	+	Raiz Crotalaria
AC 36	-	-	+	Raiz FHIA 18
AC 37	-	-	-	Raiz FHIA 18
AC 38	++	-	++	Solo Crotalaria
AC 39	+	-	-	Solo FHIA 18
AC 40	++	-	++	Solo Crotalaria
AC 41	++	-	++	Raiz FHIA 18
AC 42	++	-	++	Solo FHIA 18
AC 43	++	-	+	Solo Crotalaria
AC 44	-	-	+	Solo FHIA 18
AC 45	-	-	++	Solo FHIA 18
AC 46	-	-	++	Solo Crotalaria
AC 47	+	-	++	Raiz FHIA 18
AC 48	+	-	+	Solo FHIA 18
AC 49	-	-	++	Raiz FHIA 18
AC 50	-	-	-	Solo Crotalaria
AC 51	+++	-	++	Solo Cravo
AC 52	-	-	++	Solo Crotalaria

Os sinais indicam resposta positiva (+) ou negativa (-) em relação à produção de enzimas.

celulolítica e quitinolítica *in vitro* de diversos isolados de actinomicetos foi relatada por Sousa *et al.*, (2006). Estes autores obtiveram resultados significativos de promoção de crescimento e controle de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro produzidas em substrato incubado com actinomicetos, mas não observaram correlação entre o efeito benéfico dos actinomicetos e a produção dessas enzimas. A ação destes microrganismos como promotores de crescimento vegetal por meio da mineralização e liberação de nutrientes para as plantas e como agentes de biocontrole de fungos fitopatogênicos por meio da degradação da quitina foi sugerida, mas não comprovada por Sousa *et al.*, (2006). No presente trabalho, foi apenas constatada a atividade destas enzimas, sem estudos que apontem esta atividade enzimática como possíveis mecanismos de ação na promoção de crescimento e biocontrole de patógenos de plantas.

### **Promoção de crescimento**

A densidade populacional de actinomicetos no substrato, após a inoculação e incubação por 30 dias, não apresentou diferença significativa entre os substratos, ocorrendo variação entre  $10^9$  a  $10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup> de substrato.

A inoculação do substrato antes do plantio pode promover a estabilização da comunidade de rizobactérias e sua persistência no campo. Tal fato pode estar relacionado à necessidade de determinado intervalo de tempo para ocorrer a estabilização da população do microrganismo benéfico (SHISHIDO e CHANWAY, 2000). Sousa *et al.*, (2006), avaliando o tempo de incubação do substrato Plantmax-Horta® com isolados de actinomicetos, demonstrou a necessidade de um período de incubação variando de 30 a 40 dias para que ocorra o efeito benéfico dos actinomicetos na promoção de crescimento do tomateiro. A bacterização de sementes (LIMA, 2003) ou inoculação do substrato sem incubação, não promoveu o crescimento de mudas de tomateiro (SOUSA *et al.*, 2006).

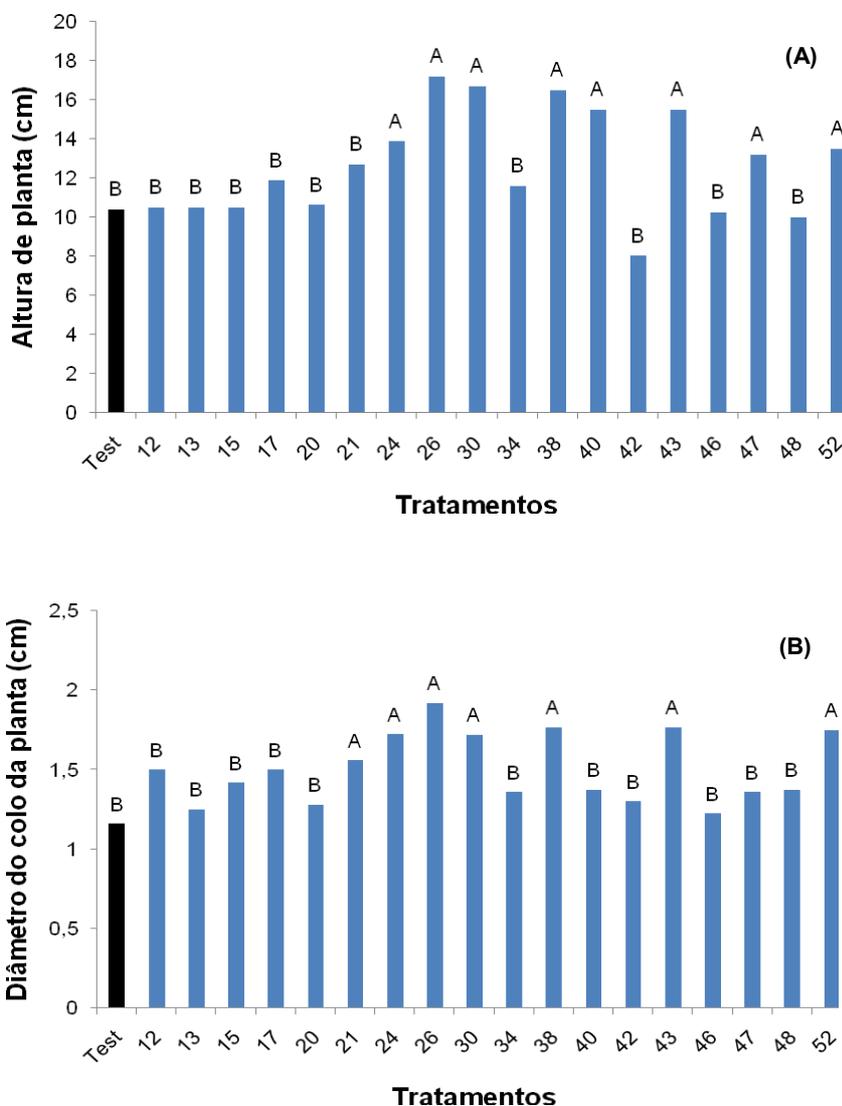
No primeiro experimento, a inoculação e incubação do substrato orgânico com os actinomicetos, apresentou resultados significativos com relação à promoção de crescimento das plantas (Figura 2).



**Figura 2.** Mudanças de banana cv. Williams, cultivadas em substrato incubado com isolados de actinomicetos e a testemunha cultivada em substrato incubado com água estéril, sem actinomicetos. As mudas foram avaliadas 45 dias após o transplante para os sacos contendo o substrato. A - Mudanças cultivadas no substrato inoculado e incubado com o isolado codificado como AC26. B - Mudanças cultivadas no substrato não inoculado, incubado com água estéril (testemunha).

Foram obtidos incrementos significativos ( $P \leq 0,01$ ) na altura das mudas com oito isolados de actinomicetos (AC24, AC26, AC30, AC38, AC40, AC43, AC47 e AC52), alcançando até 46,13% de incremento (AC26) em relação à testemunha não inoculada (Figuras 2 e 3).

Quanto ao diâmetro do pseudocaule na altura do colo, as plantas inoculadas com os isolados AC21, AC24, AC26, AC30, AC38, AC43 e AC52 apresentaram incremento significativo ( $P \leq 0,01$ ) de até 65,51% (AC26) em relação à testemunha (Figura 3).



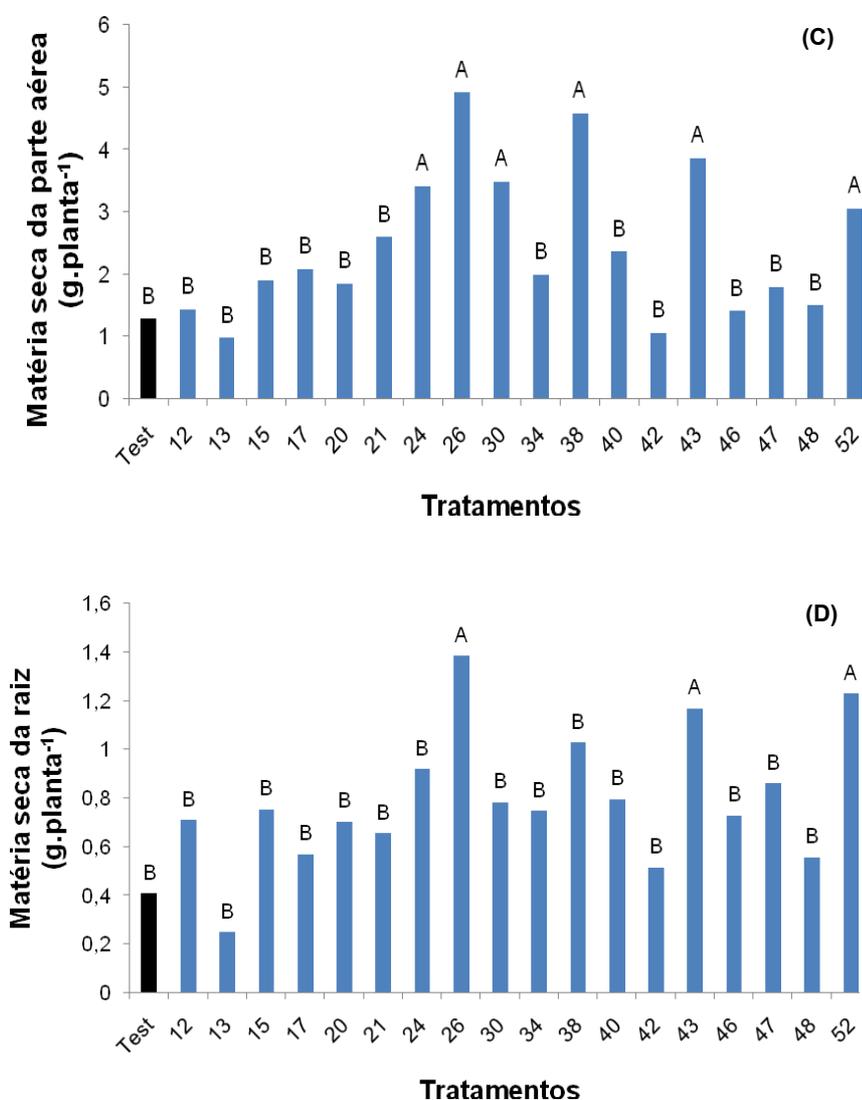
**Figura 3.** Altura e diâmetro do pseudocaule de mudas micropropagadas de bananeira cv. William, avaliadas 45 dias após o transplântio para sacos de muda contendo substrato Plantmax-Horta<sup>®</sup>. O substrato foi inoculado com isolados de actinomicetos (codificados com os números indicados nos tratamentos) e incubado por 30 dias, antes do transplântio das mudas. A testemunha (Test) foi constituída de substrato incubado com água estéril. Médias seguidas de letras iguais, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott & Knott ( $P \leq 0,01$ ).

Avaliando-se a matéria seca da parte aérea, os isolados AC24, AC26, AC30, AC38, AC43 e AC52 apresentaram os melhores resultados ( $P \leq 0,01$ ), alcançando até 283,59% de incremento comparado com a testemunha (Figura 4).

Em relação à biomassa seca da raiz, os isolados de actinomicetos que se destacaram em relação aos demais isolados e à testemunha foram o AC26, AC43 e AC52, os quais promoveram incrementos de 242,5%, 190% e 205%, respectivamente, quando comparados à testemunha (Figura 4). Estes isolados apresentaram capacidade de produção de celulase (Tabela 1).

Os efeitos de promoção de crescimento mais acentuados foram obtidos com os isolados AC26, AC38 e AC43, os quais possuem a capacidade de produção de xilanase e celulase (Tabela 1). Como os testes *in vitro* indicam apenas possíveis mecanismos de promoção de crescimento pelos microrganismos (VESSEY, 2003) e existem outros possíveis mecanismos que não foram analisados neste trabalho, não se pode afirmar que estas enzimas estão envolvidas nos mecanismos de promoção de crescimento das mudas de bananeira. A atividade xilanolítica e celulolítica não foi determinada no substrato de produção das mudas, sendo, portanto necessário a realização de mais testes para avaliar a ação dos actinomicetos nos substratos de produção de mudas.

Entretanto, segundo James *et al.* (1991), é comum a liberação de enzimas extracelulares envolvidas na reciclagem e biodegradação de compostos carbonados durante o crescimento dos actinomicetos, o que vem a favorecer a promoção de crescimento. Essa decomposição de substâncias orgânicas e a mineralização de nutrientes pela ação dos actinomicetos permite uma maior absorção de nutrientes pelas plantas e, conseqüentemente, maior crescimento (LAVELLE, 2000). Os resultados de promoção de crescimento observados neste trabalho sugerem que a incubação do substrato com os actinomicetos promove uma maior degradação da matéria orgânica. O substrato Plantmax-Horta<sup>®</sup> é composto por uma mistura de casca de pinus, vermiculita expandida e turfa. Este foi inoculado com actinomicetos e incubado por 30 dias, antes do plantio das mudas micropropagadas. Estudos futuros deverão avaliar a capacidade de decomposição dos componentes deste substrato pelos actinomicetos.

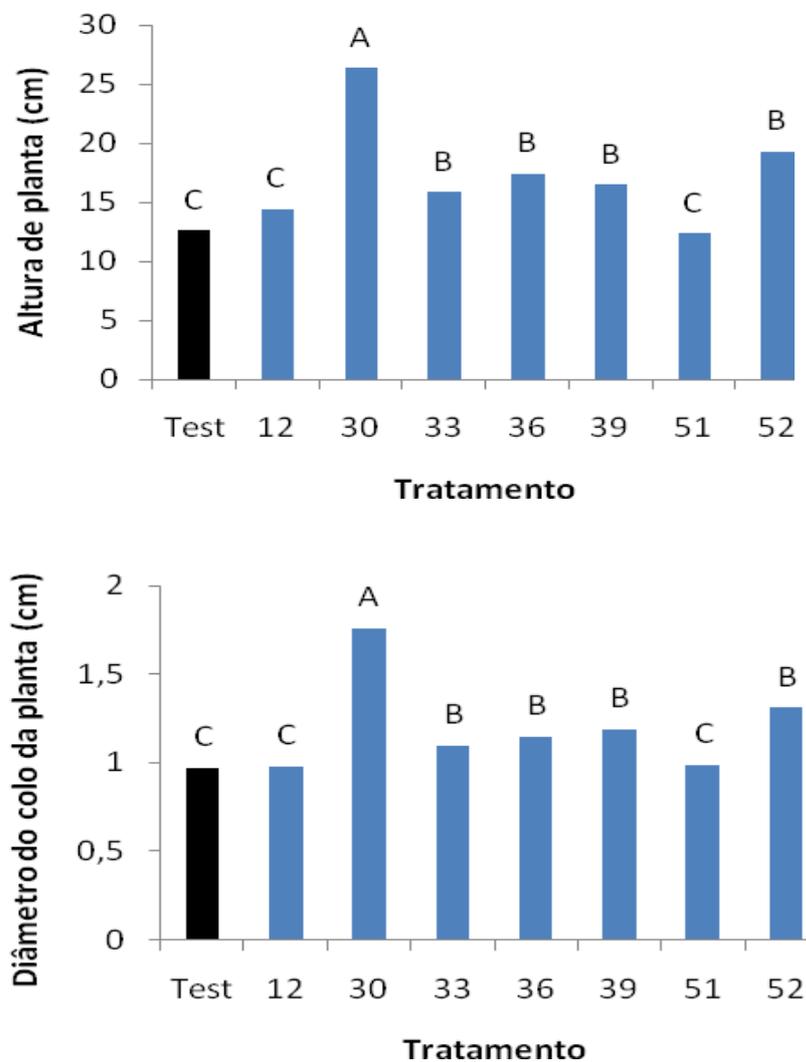


**Figura 4.** Matéria seca da parte aérea e da raiz de mudas micropropagadas de banana cv. William, avaliadas 45 dias após o transplântio para sacos de muda contendo substrato Plantmax-Horta<sup>®</sup>. O substrato foi inoculado com isolados de actinomicetos (codificados com os números indicados nos tratamentos) e incubado por 30 dias, antes do transplântio das mudas. A testemunha (Test) foi constituída de substrato incubado com água estéril. Médias seguidas de letras iguais, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott & Knott ( $P \leq 0,01$ ).

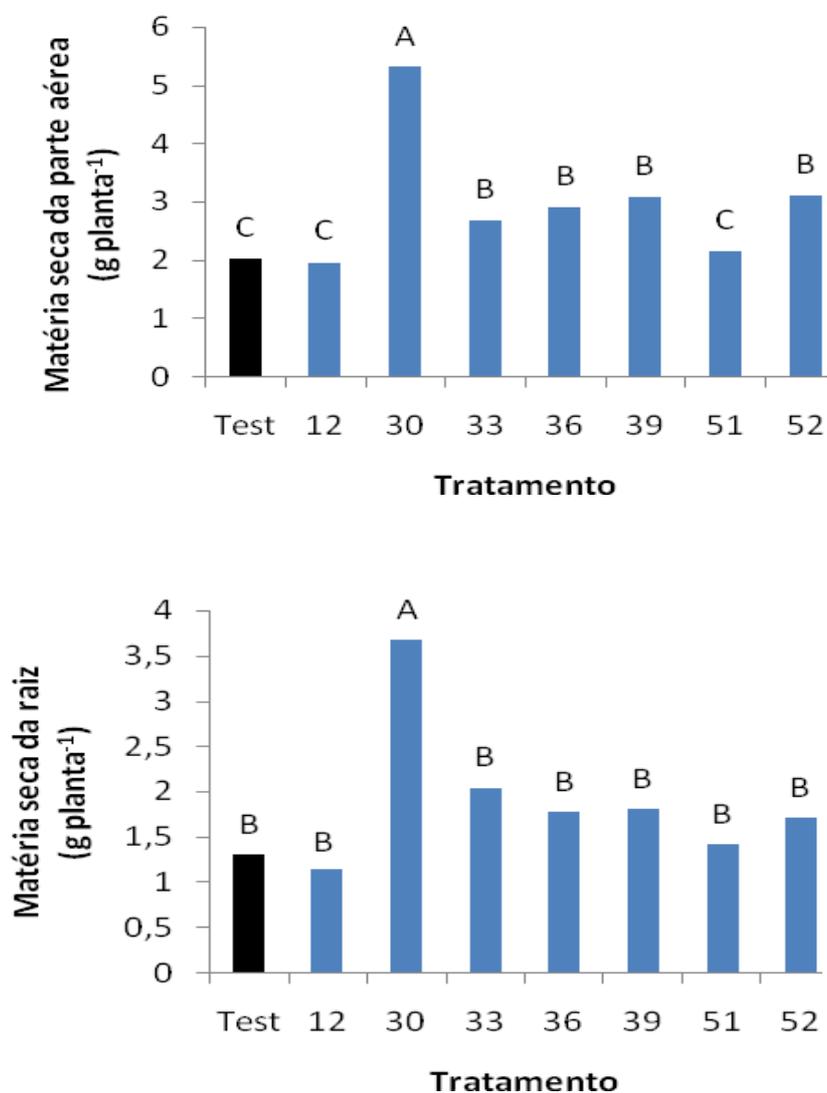
No segundo experimento também foi utilizado o substrato Plantmax-Horta®. A densidade populacional dos actinomicetos após inoculação e incubação do substrato não apresentou diferença significativa. A população média de actinomicetos por grama de substrato foi de  $10^{10}$  UFC. As mudas cv. Williams com aproximadamente 5 cm de altura foram plantadas e o experimento foi avaliado com 70 dias.

O tratamento do substrato com o isolado AC30 foi estatisticamente ( $P \leq 0,01$ ) superior aos demais tratamentos, promovendo um aumento de 109,1% na altura da muda, em relação à testemunha. Os isolados AC33, AC36, AC39 e AC32 também promoveram incrementos significativos na altura da muda, em comparação à testemunha (Figura 5). Resultado semelhante foi obtido no diâmetro do pseudocaule das mudas, onde também se destacou o isolado AC30, com 81,4% de incremento. Assim como na altura das mudas, os isolados AC33, AC36, AC39 e AC32 também promoveram o aumento do diâmetro do pseudocaule (Figura 5). O isolado AC30 apresentou nos testes *in vitro* resultado positivo apenas para produção de celulase (Tabela 1). Os microrganismos capazes de degradar celulose podem ter um papel importante na degradação da matéria orgânica do solo, beneficiando o desenvolvimento de plantas pela disponibilização de nutrientes, podendo ter ação também de biocontrole de fitopatógenos que possuem celulose na sua parede celular (BERG *et al.*, 2000).

Para matéria seca da parte aérea e da raiz, o isolado AC30 também foi superior aos demais tratamentos (Figura 6). AC52, AC39, AC36 e AC33, com incrementos significativos a 1% de probabilidade de 161,6%, 53,2%, 51,7%, 43,8% e 32,5% respectivamente (Figura 4C).



**Figura 5.** Altura e diâmetro do pseudocaule de mudas micropropagadas de bananeira cv. William, avaliadas 70 dias após o transplântio para sacos de muda contendo substrato Plantmax-Horta<sup>®</sup>. O substrato foi inoculado com isolados de actinomicetos (codificados com os números indicados nos tratamentos) e incubado por 30 dias, antes do transplântio das mudas. A testemunha (Test) foi constituída de substrato incubado com água estéril. Médias seguidas de letras iguais, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott & Knott ( $P \leq 0,01$ ).



**Figura 6.** Matéria seca da parte aérea e da raiz de mudas micropropagadas de bananeira cv. William, avaliadas 70 dias após o transplântio para sacos de muda contendo substrato Plantmax-Horta<sup>®</sup>. O substrato foi inoculado com isolados de actinomicetos (codificados com os números indicados nos tratamentos) e incubado por 30 dias, antes do transplântio das mudas. A testemunha (Test) foi constituída de substrato incubado com água estéril. Médias seguidas de letras iguais, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott & Knott ( $P \leq 0,01$ ).

O isolado AC30 foi o mais eficiente em promover o crescimento das mudas de bananeira. Em ambos os experimentos, o isolado AC 30 foi avaliado para inoculação e incubação do substrato, sendo confirmado o efeito benéfico deste isolado.

Neste trabalho foi demonstrado o efeito benéfico de isolados de actinomicetos na promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira. O efeito benéfico depende do isolado e foram destacados os isolados AC26, AC30, AC43 e AC52, com os melhores resultados de promoção de crescimento. Estudos mais aprofundados com estes isolados devem ser conduzidos para a melhor compreensão dos mecanismos de ação destes no substrato e o conseqüente efeito de promoção de crescimento, no sentido de gerar tecnologias com a incorporação deste microrganismos para a produção de mudas de bananeira, assim como de outras culturas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, H.J.; LIMA, M.B.; TRINDADE, A.V. **Mudas micropropagadas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2005.

BERG, G.; KURZE, S.; BUCHNER, A.; WELLINGTON, E. M.; SMALLA, K. Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonist to *Verticillium wilt*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.46, p.1-10, 2000.

BLACKBURN, K., ALM, S.R.; YEH, T.S. Avermectin B1, izafox, and fenamiphos for control of *Hoplolaimus galeatus* and *Tylenchorhynchus dubius* infesting *Poa annua*. **Journal of Nematology**, v.48, p.687-694, 1996.

COSTA, D. da C. **Nematoses em banana e abacaxi no Brasil: danos e manejo.** XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Uberlândia, v.22, p.50-58, 2000.

COSTA, D.C. **Variabilidade patogênica e genética de *Radopholus similis* em bananeira no Brasil.** 2004. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília. 2004.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 2000, São Carlos, **Programas e resumos.** São Carlos: UFSCar. v. 45, p. 255-258, 2000.

GOMES, R. C.; SEMEDO, L. T. A. S.; SOARES, R. M. A.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. **Applied Microbiology**, v.30, p.146-450, 2000.

GOODAY, G. H., ZHU, W. Y., DONNELL, R. W. What are the roles of chitinases in the growing fungus. **FEMS: Microbiology Letters**, v.100, p. 387-392, 1992.

HSU, S.U.; LOCKWOOD, J.L. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. **American Society for Microbiology**, v. 29, p. 422-426, 1975.

JAMES, P. D.; EDWARDS, D.; DAWSON, M. J. The effects of temperature, pH and growth rate on secondary metabolism in *S. thermoviolaceus* grow in chmostat. **Journal General Microbiology**, v.137, p. 1715-1720, 1991.

LAVELLE, P. Ecological challenges for soil science. **Soil Science**, Washington, v. 165, n. 1, p. 73-86, 2000.

LEVINE, M. **An introduction to laboratory technique in bacteriology**. New York: Mac Millan, p. 68-79, 1954.

LEWIS, K.J. **Biological control mechanism of the mycoparasite**. *Phytium oligandum*. Thesis (PhD) - University of Sheffield, Sheffield, 1988.

LIMA, J.L. **Seleção de actinomicetos para o controle biológico de *Ralstonia solanacearum* e promoção de crescimento de mudas de tomateiro**. 2003. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2003.

MURASHIMA, K.; A. KOSUGI Y R. H. DOI. Synergistic effects on crystalline cellulose degradation between cellulosomal cellulases from *Clostridium cellulovorans*. **Journal of Bacteriology**, v. 184, p. 5088-5095, 2002.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161). p.40, 2003.

PEREIRA, J.C. **Interações entre as populações de actinomicetos e outros organismos na rizosfera**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 118). p.15, 2000.

RAMÍREZ, P.; COHA, J.M. Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización e determinación de La actividad celulolítica. **Revista Peruana de Biología**, v. 10, n. 1, p. 67–77, 2003.

RENWICK, H.; CAMBELL, R.; COE, S. Assessment in vivo screening systems for potencial biocontrol agents o *Gaeumannomyces graminis*. **Plant Pathology**, London, v. 40, p. 524-532, 1991.

SHISHIDO, M.; CHANWAY, C. P. Colonization and growth promotion of outplanted spruce seedlings pré-inoculated with plant growthpromoting rhizobacteria in the greenhouse. **Canadian Journal Forest Research**, v.30, p.845-854, 2000.

SILVA, A. C. M. **Diversidade genética, densidade populacional e potencial de promoção de crescimento de rizobactérias associadas ao cacauero**. Tese (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2007.

SOUSA, C. S., SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; ALMEIDA, G. M. C. O. Estreptomicetos no controle de meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1759-1766, 2006.

TUITE, J. Plant pathological methods: Fungi and Bacteria. Minneapolis. **Burgess Publishing Company**, 1969.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003.

## **CAPÍTULO 2**

### **ACTINOMICETOS NO CONTROLE *IN VITRO* DO NEMATÓIDE CAVERNÍCOLA DA BANANEIRA *Radopholus similis*<sup>2</sup>**

---

<sup>2</sup> Nota científica submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira.

## **CONTROLE *IN VITRO* DO NEMATÓIDE *Radopholus similis* POR ACTINOMICETOS EM PLANTAS DE BANANA**

Autora: Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão

Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de metabólitos secundários produzidos por actinomicetos na mobilidade e mortalidade do nematóide cavernícola *Radopholus similis*. Os nematóides foram multiplicados *in vitro*, em cilindros de cenoura desinfestados. Os actinomicetos foram isolados de solo rizosférico e raízes de plantas de bananeira, crotalaria (*Crotalaria juncea*) e cravo de defunto (*Tagetes* sp.). Os metabólitos produzidos em meio de cultura líquido por diversos actinomicetos, reduziram a mobilidade de *R. similis*, quando comparados a testemunha (nematóides incubados em água). Os isolados codificados como AC12, AC30, AC33, AC51, AC52, AC25, AC36 e AC39 promoveram imobilidade acima de 50%. Os isolados mais eficientes foram AC39, AC52, AC30, AC33, AC12, AC51, AC25 e AC36, que apresentaram 100%, 80%, 72%, 66,7%, 61,3%, 53,3%, 52% e 50,7%, respectivamente, de mortalidade do nematóide *R. similis*.

**Palavras-chave:** *Radopholus similis*, metabolitos secundários, controle biológico.

**ACTINOMYCETES AND IN VITRO CONTROL OF THE NEMATODE  
*Radopholus similis* FROM BANANA PLANTS**

Author: Lorena Bloisi Vaz Sampaio da Paixão

Adviser: Ana Cristina Fermino Soares

**ABSTRACT:** This work aimed at evaluating the effect of secondary metabolites produced by actinomycetes in liquid growth medium, in the mobility and mortality of de banana plant parasitic nematode *Radopholus similis*. The nematodes were multiplied in vitro, in disinfested carrot slices. The actinomycetes were isolated from rhizosphere soil and roots of banana plants, *Crotalaria juncea* and *Tagetes* sp.. The metabolites produces in liquid growth media by the actinomycetes, caused a reduction in the mobility of *R similis*, when compared to the control treatment with nematodes in water. The isolates codified as AC12, AC30, AC33, AC51, AC52, AC25, AC36, and AC39 promoted over 50% reduction in nematode mobility. The most efficient isolates were AC39, AC52, AC30, AC33, AC12, AC51, AC25, and AC36, that caused 100%, 80%, 72%, 66.7%, 61.3%, 53.3%, 52%, and 50.7% of nematode mortality, respectively.

**Key-word:** *Radopholus similis*, secondary metabolites, biological control, *Streptomyces* spp.

## INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa o 2º lugar em produção mundial de banana, ficando atrás somente da Índia. Por gerar mais de 500.000 empregos, tem grande importância econômica e social, além de ser uma importante fonte de alimento (FAO, 2008).

No entanto, o cultivo da bananeira apresenta diversos problemas fitossanitários e o nematóide cavernícola *Radopholus similis* ganha destaque por gerar grandes prejuízos, chegando em alguns casos a inviabilizar o cultivo da bananeira (COSTA, 2000).

O nematóide *R. similis* em populações elevadas pode causar baixa produtividade, frutos de tamanho reduzido e tombamento da planta (COSTA, 2000). As lesões ocasionadas por este nematóide também podem gerar portas de entrada para microrganismos fitopatogênicos (GOMES e CAMPOS, 2008).

Perdas mundiais atribuídas à ação deste nematóide são equivalentes a 19,7% da produção mundial de banana (SASSER e FRECKMAN, 1987). Foram relatadas perdas de 30 a 60% na Colômbia (GOMEZ, 1980), de até 68% no México (GOMES, 1996), e no Brasil, na cultivar Nanicão de 80 a 100% (ZEM e ALVES, 1981).

As estratégias de controle deste fitonematóide têm sido ineficientes e o controle químico, método mais utilizado, apresenta riscos de contaminação e danos ao meio ambiente e, conseqüentemente, ao homem.

O controle biológico surge como uma alternativa racional de melhor aproveitamento dos recursos naturais e se constitui numa demanda constante na agricultura atual, devido à conscientização da necessidade de utilização de tecnologias limpas de produção agrícola, ambientalmente mais aceitas e que contribuam para a preservação dos recursos naturais e a sustentabilidade dos agroecossistemas (COIMBRA e CAMPOS, 2005).

Os actinomicetos são conhecidos pela sua ampla produção de metabólitos secundários, dentre eles os antibióticos e enzimas extracelulares, que vem sendo muito utilizados nas mais diversas áreas, como na agricultura, medicina veterinária e medicina humana (GOTTLIEB, 1973).

Em estudos realizados por Coimbra, et al., (2005) metabólitos de colônias de actinomicetos reduziram a motilidade de *M. javanica* em 100% e causaram mortalidade variando de 19 a 100%.

Naves et al., (2004) analisando a imobilidade e a mortalidade do nematóide *M. javanica* após 24 e 48 h de exposição aos filtrados de isolados de culturas bacterianas obtiveram mais de 90% de motilidade e mortalidade.

Sousa et al., (2006) trabalhando com o controle de *M. incognita* em mudas de tomateiro, demonstraram que metabólitos produzidos por actinomicetos promoveram 100% de mortalidade de *M. incognita* e o controle em mudas de tomateiro produzidas em substrato inoculado e incubado com os actinomicetos foi de 68% com relação à produção de galhas e 76,8% para redução da massa de ovos.

O controle de nematóides por actinomicetos, os quais podem colonizar raízes de plantas, rizosfera e os mais diversos tipos de solos (GAVA, 1998), pode se constituir numa importante estratégia de controle. As principais estratégias empregadas no controle de nematóides ainda envolvem o controle químico através do uso de nematicidas, o qual não apresenta boa eficiência e tem riscos de contaminação ambiental e do fruto (BETTIOL, 2001).

O controle biológico pode e deve ser utilizado como uma estratégia econômica e ambientalmente aceitável de controlar os nematóides. Para tal, são necessários trabalhos de pesquisa para a seleção e avaliação de microrganismos com potencial de bioncontrole, destacando-se os actinomicetos por serem organismos produtores de metabólitos secundários com ação nematostática, nematicida e serem produtores de esporos, o que viabiliza a produção e preservação de inoculo (COIMBRA et al., 2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de metabólitos secundários produzidos por actinomicetos na mortalidade do nematóide cavernícola *Radopholus similis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Multiplicação do nematóide *Radopholus similis* em cilindros de cenoura

O inóculo de *Radopholus similis* foi obtido da coleção de culturas mantidas em cilindros de cenoura *in vitro*, gentilmente cedidas pelo Dr. Dilson Costa da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília.

Os nematóides foram desinfestados com bicloreto de mercúrio (0,01%) e sulfato de streptomicina (0,02%) e multiplicados em cilindros de cenoura em frascos de vidro autoclavados, contendo fina camada de meio agar-água, na composição de 15g de agar para 1L de água destilada, para manter a umidade no recipiente (Figura 1). Os nematóides foram mantidos em câmara de crescimento, BOD a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , por 30 dias. Após esse período, os pedaços de cenoura foram triturados em liquidificador e lavados com água destilada, sobre peneiras de 400 Mesh para extração dos nematóides e inoculação de novos cilindros de cenoura.



**Figura 1.** Multiplicação do nematóide *R. similis* em cilindros de cenoura, com fina camada de meio de cultura Agar - água apenas para manter a umidade no recipiente.

### **Obtenção de metabólitos produzidos pelos isolados de actinomicetos**

Para produção dos metabólitos, colônias de actinomicetos foram multiplicados em meio AGS sólido (*Arginine-Glycerol-Mineral Salt Agar*) por um período de 12 dias a temperatura ambiente, e em seguida, repicadas para frascos de Erlenmeyer contendo 30 mL de meio AGS líquido (POTER, 1960), constituído de: 1g de L-arginina; 12,5mL de glicerol; 1g de  $K_2HPO_4$ ; 1g de NaCl; 0,5g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1mL de solução de micronutrientes; 1 litro de água destilada, com pH ajustado para 7,2. A solução de micronutrientes continha: 1g de  $Fe_2(SO_4)_3 \cdot 6H_2O$ ; 0,1g de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ; 0,1g de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  e 0,1g de  $MnSO_4 \cdot H_2O$  em 100 mL de água destilada.

As culturas em meio líquido foram incubadas durante 14 dias a  $28^\circ C \pm 2^\circ C$ , em agitador orbital, a 140 rpm. Ao final desse período, as culturas dos actinomicetos foram centrifugadas a 15.000 rpm por 10 minutos de forma a separar as células do meio líquido (sobrenadante). Esse sobrenadante foi armazenado em tubos de centrifuga em polietileno, com capacidade para 15 ml, para com tampa de rosca e mantidos em freezer  $4^\circ C$  para testes futuros.

### **Efeito dos metabólitos produzidos pelos actinomicetos na mortalidade de nematóides *Radopholus similis*.**

Em cada célula de placa tipo Elisa foram transferidos 150 $\mu$ l do sobrenadante (meio líquido contendo os metabólitos produzidos pelo isolado de actinomiceto) e 50 $\mu$ l de uma suspensão com 25 nematóides *R. similis*, obtidos do cultivo *in vitro* em cilindros de cenoura, conforme descrito acima (ao acrescentar a suspensão de nematóides, a concentração do metabolito foi diluída 1/3). A testemunha foi formada por água esterilizada e 50 $\mu$ l de uma suspensão com 25 nematóides *R. similis*, obtidos também do cultivo *in vitro* em cilindros de cenoura. As placas foram vedadas com parafilme e colocadas em câmara de crescimento a  $25^\circ \pm 2^\circ C$ . Após 24 horas, os nematóides foram retirados desse meio líquido (contendo os metabolitos de actinomicetos), lavados e colocados em água esterilizada por 24, 48 e 72 horas. Ao final desse horários foram feitas avaliações,

com auxílio de microscópio de objetiva invertida, do número de nematóides imóveis (que não se movimentam ou apresentam o corpo com aspecto retilíneo ou retorcido). Os nematóides que permanecerem imóveis após esse período foram classificados como mortos. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste Scott & Knott a 5 % de probabilidade pelo programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os metabólitos produzidos em meio líquido pelos isolados de actinomicetos testados causaram redução na mobilidade e causaram mortalidade de *R. similis*, quando comparados a testemunha incubada em água. Os metabólitos produzidos pelos isolados AC12, AC30, AC33, AC51, AC52, AC25, AC36 e AC39 causaram imobilidade de mais de 50% nos três períodos de avaliação. A queda na percentagem de nematóides imóveis no final de 72h de incubação em água esterilizada (Tabela 1) indica que estes recuperaram os movimentos, não sendo, portanto, considerados mortos. Com base na percentagem de imobilidade dos nematóides, 24 horas após incubação no meio líquido contendo os metabólitos dos actinomicetos e 72 horas após a incubação em água, concluí-se que os metabólitos produzidos em meio líquido pelos actinomicetos causaram a mortalidade de *R. similis*, a qual variou com o isolado de actinomiceto. Assim, os isolados mais eficientes foram os seguintes: AC39, AC52, AC30, AC33, AC12, AC51, AC25 e AC36, que apresentaram 100%, 80%, 72%, 66,7%, 61,3%, 53,3%, 52% e 50,7% respectivamente de mortalidade do nematóide *R. similis*. Os resultados apresentaram diferença significativa a 1% de probabilidade.

**Tabela 1.** Imobilidade de *R. similis* após a incubação por 24 horas no meio de cultura líquido contendo os metabólitos dos actinomicetos, seguido de incubação por 24, 48 e 72h em água estéril.

<i>R. similis</i> imóveis (%)			
Isolados	24h	48h	72h
Test	4,0	4,0	4,0
AC 8	26,7	22,7	22,7
AC 11	64,0	56,0	49,3
AC 12	89,3	80,0	66,7
AC 13	46,7	40,0	34,7
AC 14	48,0	40,0	32,0
AC 15	53,3	46,7	36,0
AC 17	54,7	50,7	48,0
AC 18	52,0	46,7	36,0
AC 22	21,3	16,0	12,0
AC 23	34,7	22,7	17,3
AC 24	33,3	30,7	26,7
AC 25	65,3	58,7	52,0
AC 26	58,7	50,7	45,3
AC 28	36,0	34,7	33,3
AC 30	93,3	78,7	72,0
AC 32	48,0	41,3	41,3
AC 33	80,0	70,7	61,3
AC 34	56,0	52,0	41,3
AC 35	14,7	12,0	9,3
AC 36	57,3	54,7	50,7
AC 38	30,7	29,3	28,0
AC 39	100,0	100,0	100,0
AC 40	46,7	44,0	38,0
AC 41	38,7	34,7	30,7
AC 42	53,3	50,7	44,0
AC 43	45,3	36,0	30,7
AC 44	26,7	20,0	17,3
AC 45	16,0	13,3	12,0
AC 46	56,0	46,7	37,3
AC 47	57,3	49,3	44,0
AC 48	54,7	49,3	41,3
AC 49	41,3	34,7	26,7
AC 51	72,0	62,7	53,3
AC 52	96,0	86,7	80,0

Obs: Os nematóides que permanecerem imóveis após 72 horas de incubação em água foram classificados como mortos.

Substâncias produzidas *in vitro* por fungos e bactérias têm sido reportadas inibindo a eclosão, afetando a motilidade e causando mortalidade em fitonematóides (COSTA, 2000). Algumas rizobactérias produzem metabólitos tóxicos que causam inibição do movimento de nematóides *in vitro*, enquanto outras inibem a eclosão de juvenis e o processo pelo qual eles penetram as raízes (STIRLING, 1991). A inibição parcial ou total do movimento de *M. incognita* causada por cerca de 50 rizobactérias em testes *in vitro*, foi observada por Becker *et al.* (1988). Estes autores relataram que, destas bactérias, 20% reduziram significativamente o número de galhas em plantas de pepino, demonstrando a importância deste modo de ação.

Naves *et al.*, (2004) observaram que a imobilidade e mortalidade de J2 de *M. javanica* aumentaram em todos os filtrados bacterianos testados, quando se aumentou o período exposição de 24 para 48 horas. Possivelmente, o aumento da exposição do nematóide *R. similis* aos metabólitos dos actinomicetos em meio líquido poderia aumentar a eficiência de alguns isolados no controle deste nematóide.

O nematóide ao reconhecer o estímulo quimiotrópico se direciona as raízes. No entanto, algumas rizobactérias produtoras de metabolitos com características nematostáticas causam a redução na mobilidade do nematóide a ponto de impedir que ele atinja a raiz (BECKER *et al.*, 1988).

O nematóide *R. similis* penetra nas raízes da bananeira e migra pelos tecidos radiculares, podendo chegar até o rizoma. O ato de migrar internamente nas raízes ocasiona a desintegração dos tecidos, formando cavidades, necrosando os tecidos, chegando em alguns casos a causar o tombamento da planta (ROSSI, 2008).

A produção de metabólitos produzidos por rizobacterias no substrato e na rizosfera da planta pode causar a imobilidade e mortalidade do nematóide, antes da penetração nas raízes, reduzindo a infectividade (FREITAS, 2008).

Trabalhos conduzidos com *Meloidogyne incognita* do tomateiro apresentaram mortalidade *in vitro* variando entre 37 e 98,2 % causada por metabólitos produzidos por actinomicetos (SOUSA *et al.*, 2006).

Coimbra e Campos (2005) obtiveram valores de mortalidade variando entre 19 a 100%, ao avaliar o efeito de exsudatos de actinomicetos na motilidade e mortalidade de J2 de *M. javanica*.

Os actinomicetos são mundialmente conhecidos pela sua produção de antibióticos, agindo no controle de diversas doenças de plantas (PADILHA, 1998). Esses microrganismos têm grande importância industrial, pela variada produção dos metabolitos secundários, respondendo a 70% dos antibióticos conhecidos (ARAUJO, 1998).

O isolado AC12 é produtor de quitinase, os isolados AC30, AC33, AC25, AC36 e AC52 são produtores de celulase, o isolado AC39 é produtor de xilanase e o isolado AC51 é produtor de xilana e celulase.

Trabalhos desenvolvidos por Spiegel (1987) demonstram o efeito da quitinase em controlar fitonematóides, devido à decomposição da quitina pelos actinomicetos. No solo, a decomposição da quitina libera substâncias tóxicas a fitonematóides como a amônia, rica em nitrogênio. Além da liberação de substâncias tóxicas, a quitina serve como fonte de energia para os actinomicetos, permitindo a esses organismos competir com mais eficiência com outros microrganismos (SPIEGEL, 1987).

Adicionalmente, a ação das enzimas pode ocorrer em função da sua concentração, ou seja, a quantidade produzida no meio de cultura, o que não foi determinado neste trabalho, pois a produção dessas enzimas, como xilana, quitina e celulase, esta diretamente relacionada com o ciclo celular, que sofre influência de fatores, com variações nutricionais e fatores de regulação, além de tais compostos estarem envolvidos no crescimento de plantas (SOUSA, 2006).

Os isolados que mais se destacaram foram AC39, AC52 e AC30 que causaram 100%, 80% e 72% de mortalidade no nematóide *R. similis*, respectivamente. Entretanto, outros isolados com atividade enzimática não tiveram efeito nematicida significativo. Tais resultados sugerem que outros mecanismos podem estar envolvidos no controle do nematóide *in vitro*. Como os isolados testados apresentaram bons resultados em relação à promoção de crescimento de mudas de banana e biocontrole do nematóide *R. similis*, mais

estudos *in vitro* e *in vivo* devem ser conduzidos com estes actinomicetos, para melhor se avaliar sua ação no nematóide e na planta.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, J. M. Estratégias para isolamento seletivo de actinomicetos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, p. 351-367, 1998.

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

BETTIOL, W. Seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (ed.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Brasília: EMBRAPA. p. 388, 1991.

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

COSTA, D. da C. **Nematoses em banana e abacaxi no Brasil: danos e manejo**. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Uberlândia, v.22, p.50-58, 2000.

FAO. Base de Datos Estadísticos, 2005. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\\_visualiza.php?id\\_noticia=740](http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=740). Acesso em 26 mar 2008.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 2000, São Carlos, **Programas e resumos**. São Carlos: UFSCar. v. 45, p. 255-258, 2000.

FREITAS, L.G. **Rizobactérias versus nematóides**. Disponível em: <http://www.ufv.br/dfp/lab/nematologia/rizo.pdf> . Acesso em 10 julho 2008.

GAVA, C. A. T. **Selecao de estreptomicetos para controle biologic de *Ralstonia solanacearum* e *Erwinia carotovora***. 1998, 114f. Tese (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1998.

GOTTLIEB, D. **General consideration and implications of the actinomycetales**. In: SYKES, G.; SKINNER, F.A. (Eds.). Actinomycetales: Characteristics and practical importance. London: Academic Press, p.1-10, 1973.

GOMES, J.T. Dispersion and level of root infestation by the “burrowing nematodes *Radopholus similis*” Cobb in some banana plantations of El Oro province, Ecuador. In: **ACORBAT Meeting**. Santo Domingos: Junta Agroempresarial Dominicana, v. 12, p. 88, 1996.

GOMES, C. B.; CAMPOS, A. D. **Doenças causadas por nematóides na cultura do pessegueiro**: sistema de produção, 2007. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/nemato.htm>>. Acesso em: 31 mar 2008.

GOMEZ, T. J. Determinacion de la infestacion de fitonematodos em plantaciones bananeras de Ubara. Colômbia. **Fitopatologia colombiana**, v. 9, p. 1932, 1980.

NAVES, R. L.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, R. M. Filtrados de Culturas Bacterianas Endofíticas na Motilidade, Mortalidade e Eclosão de Juvenis de Segundo Estádio de *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p. 384-387, 2004.

PADILHA, G. Biologia molecular de *Streptomyces* e aplicações industriais. In: MELO, I.S. de; AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Ecologia microbiana**, Juaguariúna, EMBRAPA –CNPMA. p. 327-343, 1998

POTER, J.N.; WILHELM, J.J.; TRESNER, H.D. Method for the preferential isolation of actinomycetes from soils. **Applied Microbiology**, v. 8, p. 174-178, 1960.

ROSSI, C, E. **Nematóides da Bananeira.** In: <[www.biologico.sp.gov.br/rifib/VIRifib/rossi.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/rifib/VIRifib/rossi.pdf)>. Acesso em: 14 de abril de 2008.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W. A world perspective on nematology, the role of society. 1987. In: SANTOS, J. R. P. **Caracterização de genótipos de *Musa* com base na reação a *Radopholus similis* e de genótipos contrastantes para resistência com base em marcadores moleculares RAPD.** Tese (Mestrado). Universidade de Brasília. Brasília, 2007.

SOUSA, C. S., SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; ALMEIDA, G. M. C. O. Estreptomicetos no controle de meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1759-1766, 2006.

SOUSA, C.C. **Estreptomicetos promotores de crescimento e agentes de biocontrole da meloidoginose no tomateiro.** 2006. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2006.

SPIEGEL, Y.; CHET, L.; COHN, E. Use of chitin for controlling plant-parasitic nematodes II. Mode of action. **Plant and Soil**, v. 98, p. 337-345, 1987.

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

ZEM, A.C., E.J. ALVES. **Observações sobre perdas provocadas por nematóides em bananeira (*Musa acuminata* Simm. & Sherp.) cv. Nanicão.** Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF. (Boletim de Pesquisa, n 6), p.10, 1981.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pertencentes a classe Actinobacteria, os actinomicetos são um importante grupo de bactérias com potencial de promoção de crescimento de plantas, facilmente encontradas no solo, e conhecidas por sua ampla produção de metabólitos secundários, entre eles os antibióticos, enzimas extracelulares e inibidores enzimáticos, com aplicações na medicina, agricultura e veterinária (SOUSA et al., 2006). Actinomicetos em geral, são conhecidos por possuir muitas espécies que podem inibir o desenvolvimento de muitos fitopatógenos *in vitro* (GAVA et al., 1999).

Este trabalho teve como objetivos quantificar a população de bactérias totais e actinomicetos na rizosfera e raízes de plantas de bananeira FHIA 18; caracterizar os isolados de actinomicetos quanto à produção de enzimas extracelulares (celulase, xilanase e quitinase); avaliar o potencial destes isolados na promoção de crescimento de mudas de bananeira cv. William e o efeito de metabólitos secundários produzidos pelos actinomicetos na mortalidade do nematóide cavernícola *Radopholus similis*.

Não foram encontradas diferenças nas densidades populacionais entre as amostras de solo e de raízes para bactérias totais e actinomicetos no plantio de bananeira. Entretanto, a densidade populacional de bactérias totais foi superior a de actinomicetos. ( $P < 0,05$ ).

A densidade populacional dos actinomicetos no substrato de produção de mudas, após inoculação e incubação por 30 dias, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com os diferentes isolados, ocorrendo variação entre  $10^9$  a  $10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup> (Capítulo 1).

No primeiro experimento, a inoculação e incubação do substrato orgânico Plantmax-Horta® com os actinomicetos apresentou resultados significativos com relação à promoção de crescimento das plantas, destacando-se os isolados AC21, AC26, AC24, AC30, AC38, AC40, AC43, AC46, AC47 e AC52. No segundo experimento, o isolado AC30 promoveu resultados significativos com relação à promoção de crescimento de mudas, destacando-se dos demais isolados (Capítulo1).

O meio de cultura líquido contendo os metabolitos produzidos pelos actinomicetos causou redução na imobilidade em *R. similis*, a qual variou com o isolado de actinomiceto. Os isolados AC12, AC30, AC33, AC51, AC52, AC25, AC36 e AC39 causaram imobilidade em *R. similis* de mais de 50%, mesmo após a retirada dos nematóides da suspensão contendo os metabolitos, seguido de incubação dos nematóides em água esterilizada por 24, 48 e 72 horas. No entanto, houve uma queda na percentagem de nematóides imóveis no final de 72h, o que demonstra que uma percentagem dos nematóides recuperou os movimentos após serem transferidos para água estéril. Os isolados mais eficientes foram AC39, AC52, AC30, AC33, AC12, AC51, AC25 e AC36, destacando-se os isolados AC39, AC52 e AC30 que causaram 100%, 80% e 72% de mortalidade no nematóide *R. similis*, respectivamente (Capítulo 2).

Alguns actinomicetos produzem metabolitos tóxicos que afetam a motilidade, enquanto outros inibem a eclosão de juvenis e o mecanismo de penetração nas raízes (STIRLING, 1991). As avermectinas, um grupo de lactonas macrocíclicas com potente atividade nematicida, são produzidas por um actinomiceto (STRETTON *et al.*, 1987). Cayrol *et al.*, (1993) estudaram os efeitos da abamectina, um tipo de avermectina, sobre o nematóide *Meloidogyne arenaria* em tomate e, estudos preliminares mostraram que 1mg/L da avermectina inibiu a eclosão de juvenis mesmo depois de 12 dias de incubação. Juvenis expostos a baixas concentrações da avermectina (0,3 mg/l) ficaram paralisados depois de 24 h.

O isolado AC30, que é produtor de celulase ganha destaque dos demais isolados, pois apresentou resultados significativos para promoção de crescimento

de mudas de banana nos dois experimentos, o que confirma sua eficiência no melhor desenvolvimento das mudas. Para o controle *in vitro* do nematóide *Radopholus similis*, o mesmo isolado (AC30), também apresentou grande eficiência, causando 72% de mortalidade do nematóide em estudo. Portanto, o actinomiceto AC30 é bastante promissor, devendo ser mais estudado. Considerando apenas o efeito de biocontrole do nematóide cavernícola da bananeira, destacaram-se os isolados AC39, AC52 e AC30 que causaram 100%, 80% e 72% de mortalidade no nematóide *R. similis*, respectivamente.

Apesar dessas evidências do potencial de diversos isolados de actinomicetos para promoção de crescimento e controle do nematóide *R. similis* na bananeira, outros estudos “*in vitro*” e “*in vivo*” devem ser conduzidos, para avaliar os possíveis mecanismos de ação destes actinomicetos e selecionar aqueles isolados com maior potencial para controle de *R. similis*, de outros nematóides e promoção de crescimento da bananeira e outras culturas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAYROL, J.C., DJIAN, C.; FRANKOWSKI, J.P. Efficacy of abamectin B1 for the control of *Meloidogyne arenaria*. **Fundamental and Applied Nematology**. v.16, p.239-46, 1993.

GAVA, C. A. T.; PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P. Effects of streptomycetes inoculation in seed germination and plant growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 71, p. 3-11, 1999.

SOUSA, C. S., SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; ALMEIDA, G. M. C. O. Estreptomicetos no controle de meloidoginose em mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1759-1766, 2006.

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

STRETTON, A.O.W., CAMPBELL, W.C. & BABU, J.R. Biological activity and mode of action of avermectins. *In* VEECH, J.A. & DICKSON, D.W. (eds). **Vistas on Nematology**, Society of Nematologists, Hyattsville. p. 136-146, 1987.