

JOSIANE GONÇALVES SILVA

**Pochonia chlamydosporia PARA O MANEJO DE Meloidogyne javanica E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MUDAS DE BANANEIRA ‘PRATA-ANÃ’**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2016

T

S586p  
2016

Silva, Josiane Gonçalves, 1988-  
*Pochonia chlamydosporia* para o manejo de *Meloidogyne javanica* e promoção de crescimento em mudas de bananeira 'Prata-Anã' / Josiane Gonçalves Silva. - Viçosa, MG, 2016.  
vi, 27f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Leandro Grassi de Freitas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Bananeira - Doenças e Pragas. 2. *Meloidogyne javanica*.  
3. Nematoda. 4. Bananeira - Controle biológico. 5. *Pochonia chlamydosporia*. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitopatologia. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia. II. Título.

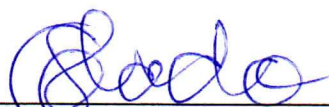
CDD 22 ed. 634.7729

JOSIANE GONÇALVES SILVA

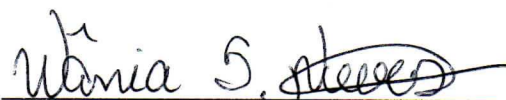
***Pochonia chlamydosporia* PARA O MANEJO DE *Meloidogyne javanica* E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MUDAS DE BANANEIRA 'PRATA-ANÃ'**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

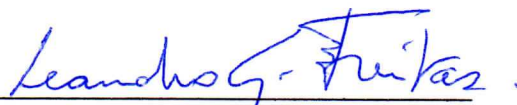
APROVADA: 27 de julho de 2016.



Gleiber Quintão Furtado



Wânia dos Santos Neves



Leandro Grassi de Freitas  
(Orientador)

*Á Deus, por sempre iluminar o meu caminho,  
Aos meus pais, José Maria e Maria dos Reis,  
pelo amor e apoio em todos os momentos,  
Aos meus irmãos Júneo e Fernando pelo  
carinho e apoio,  
Ao meu noivo Nivaldo, pelo companheirismo e  
amor.*

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do Programa de Pós-Graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador professor Leandro Grassi de Freitas, pela orientação, dedicação, ensinamentos e apoio durante todo o curso.

Aos professores e funcionários técnicos do Departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos transmitidos.

Ao professor Hugo Genier e colegas de laboratório, por terem me disponibilizado o laboratório e ajudado na condução deste trabalho.

Ao professor Gleiber Quintão Furtado e a pesquisadora Wânia dos Santos Neves, pela disponibilidade e sugestões na correção deste trabalho.

Aos amigos e colegas do laboratório Bionema pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos em especial a Raul, Thalita, Huarlen, Rosana, Fernanda, Paula e Paulo Victor e Oswaldo.

Aos colegas da turma de mestrado, pela amizade, carinho e apoio. Em especial Ana Letícia e Júlia.

À Annanda, pela amizade, companheirismo, apoio e pelos momentos de alegria vividos.

Aos amigos que sempre estiveram ao meu lado e que contribuíram para a realização deste trabalho.

## ÍNDICE

RESUMO .....	vi
ABSTRACT.....	vi
INTRODUÇÃO .....	1
MATERIAL E MÉTODOS .....	4
RESULTADOS.....	9
DISCUSSÃO.....	15
REFERÊNCIAS.....	20
ANEXO.....	26

## RESUMO

Silva, Josiane Gonçalves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Pochonia chlamydosporia para o manejo de Meloidogyne javanica e promoção de crescimento em mudas de bananeira ‘Prata-Anã’**. Orientador: Leandro Grassi de Freitas.

A banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais consumidas no mundo. O Brasil ocupa a 5ª colocação na produção mundial dessa cultura, mostrando relevância no cenário agrícola. Os nematoides do gênero *Meloidogyne* se destacam por sua ampla distribuição mundial e pela magnitude das perdas que causam à cultura, diretamente e pela predisposição ao parasitismo por fungos de solo. O controle biológico de fitonematoídeos tem sido estudado para essa cultura como uma ferramenta possível de ser usada em manejo integrado. Nesse estudo foram avaliados o controle biológico de *Meloidogyne javanica* em mudas micropropagadas de bananeira ‘Prata-Anã’ por sete isolados de *Pochonia chlamydosporia* (Pc-10; Pc-18; Pc-20; Pc-42; Pc-54; Pc-64 e Pc-123) e a redução do stress causado pelo nematoídeo nas mudas de bananeira pela aplicação do isolado Pc-10, medida pela atividade das enzimas polifenoloxidase (PFO) e fenilalanina amônia liase (FAL). Os isolados Pc-10, Pc-64, Pc-123 e Pc-18 reduziram significativamente o número de ovos do nematoídeo. Pc-42, Pc-54 e Pc-20 não reduziram o número de ovos. O número de galhas nas raízes foi reduzido apenas pelo isolado Pc-10 em comparação com os outros tratamentos. Existe variação na promoção de crescimento de mudas entre os isolados de *P. chlamydosporia*. O isolado Pc-42 apresentou a maior concentração no solo (UFC) após os experimentos de controle biológico e de promoção de crescimento. O isolado Pc-10 reduziu o stress em mudas de bananeira inoculadas com *M. javanica*.

## ABSTRACT

Silva, Josiane Gonçalves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Pochonia chlamydosporia for the management of Meloidogyne javanica and growth promotion in banana seedlings 'Prata-Anã'**. Advisor: Leandro Grassi de Freitas.

The banana (*Musa* spp.) is one of the most consumed fruits in the world. Brazil occupies the 5th place in the world production of this crop, showing relevance in the agricultural scenario. The nematodes of the genus *Meloidogyne* stand out for their worldwide distribution and the magnitude of losses that cause to the culture directly and the predisposition to parasitism by soilborne fungi. Biological control of nematodes has been studied for this crop as a possible sustainable tool to be used in integrated pest management. In this study we assessed the biological control of *Meloidogyne javanica* in plantlets of banana 'Prata Ana' by seven isolates *Pochonia chlamydosporia* (PC-10, PC-18, PC-20, PC-42, PC-54, PC-64 and P-123) and the stress reduction caused by the nematode in banana seedlings by applying the isolate Pc-10, measured by the activity of the enzymes polyphenoloxidase (PPO) and phenylalanine ammonia lyase (PAL). The isolates PC-10, PC-64, PC-123 and PC-18 reduced the number of nematode eggs significantly. PC-42, PC-54 and PC-20 did not cause reduction in the number of eggs. The number of galls on the roots was only reduced by PC-10 in comparison with other treatments. There was variation in the seedling growth promotion by the isolates of *P. chlamydosporia*. The isolate Pc-42 showed the highest concentration in the soil (CFU) after the biocontrol and growth promotion experiments. The isolate Pc-10 reduced the stress on plants inoculated with *M. javanica*.

## INTRODUÇÃO

A banana (*Musa spp.*) é uma das frutas mais consumidas no mundo com 11,4 kg/habitante/ano, perdendo apenas para a laranja com 12,2 kg/habitante/ano (FAO, 2014). O Brasil tem contribuição na produção dessa fruta ocupando a quinta colocação com 6,9% da produção mundial, superado pelos países Índia (28,1%), China (10,1%), Filipinas (8,6%) e Equador (7,0%) (Vieira et al., 2013). No Brasil, a cultura é afetada por diversas doenças, as perdas causadas por patógenos podem chegar a 100% quando o controle não é efetuado corretamente (Cordeiro & Silva, 2000). Dentre os patógenos de importância econômica, os fitonematoides do gênero *Radopholus similis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne spp.* são responsáveis pelos danos significativos à cultura e destacam-se devido à distribuição nas regiões produtoras (Ritzinger & Costa, 2004).

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne spp.*) são considerados importantes, pois causam sérios danos na cultura, são amplamente disseminados nas áreas de produção no Brasil e no mundo (Costa, 2000) em infestações severas, além do sintoma característico das galhas nas raízes secundárias e terciárias, ocorre também o apodrecimento radicular. As plantas infectadas não absorvem água e nutrientes do solo de forma adequada, reduzindo a quantidade e qualidade dos frutos (Borges et al., 2009). O estresse causado pela infecção dos nematoides nas plantas, assim como o estresse hídrico, ocasionado por essa infecção, podem aumentar a atividade das enzimas polifenoloxidase (PFO) e fenilalanina amônia liase (FAL) na planta (Vizzoto, 2010).

Estratégias para reduzir a população de fitonematoides com menor utilização de agrotóxicos e maior exploração do controle biológico têm sido cada vez mais consideradas (Romero et al., 2007; Santos et al., 2013; Podestá et al., 2013). O controle biológico de fitonematoides tem sido estudado para o manejo desses fitoparasitas (Araújo & Marchesi, 2009; Luambano et al., 2015; Huang et al., 2016). No controle biológico ocorrem interações antagônicas entre agente microbiano e nematoide. Os mecanismos de ação dos antagonistas são antibiose, competição, parasitismo, predação, hipovirulência e indução de defesa do hospedeiro (Bettioli & Morandi 2009).

Os fungos nematófagos são divididos em quatro grupos: fungos predadores ou formadores de armadilha, fungos endoparasitas, fungos produtores de toxinas e fungos parasitas de ovos e fêmeas de nematoides (Jansson et al., 2001). *Pochonia chlamydosporia* Zare & Gams (syn. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) é um fungo que tem se mostrado eficiente na redução de população de nematoides, especialmente os nematoides das galhas (Moosavi et al., 2010; Dallemole-Giaretta et al., 2008; Vigiano et al., 2015). Seu principal modo de ação contra os nematoides é o parasitismo de ovos e fêmeas, porém sua produção de enzimas e toxinas que alteram os exsudatos radiculares também são fatores que afetam negativamente os nematoides. *Pochonia chlamydosporia* apresenta outros atributos desejáveis como a capacidade de promover o crescimento vegetal e aumentar a produtividade agrícola. Sua habilidade de colonizar as raízes de inúmeras espécies vegetais e de degradar a matéria orgânica do solo proporciona às plantas a exploração de maior volume do solo ao mesmo tempo em que promove maior absorção de nutrientes, como nitrogênio, fósforo e potássio (Monteiro, 2013).

*Pochonia chlamydosporia* apresenta capacidade de produzir esporos de parede grossa com reserva nutricional, os clamidósporos, que conferem rusticidade ao fungo e maior capacidade de competir, sobreviver e se estabelecer em solos com diferentes características físicas, químicas e microbiológicas (Kerry, 1995; Hallmann et al., 2009). Estudos comprovam variação no potencial do controle biológico entre isolados de *P. chlamydosporia* (Dallemole-Giaretta et al., 2012). Também existe variação na capacidade de isolados de *P. chlamydosporia* em ocupar diferentes nichos na rizosfera e no solo, por isso torna-se importante ter esse conhecimento para seleção de isolados apropriados para o controle de nematoides (Mauchline et al., 2003).

Diferentemente dos animais, as plantas não apresentam um sistema imunológico adaptativo com células móveis. Dessa forma, elas dependem que cada célula, individualmente, tenha a capacidade de perceber o patógeno, sinalizar às células vizinhas e produzir uma resposta de defesa (Hermosa et al., 2013). A colonização de *P. chlamydosporia* ocorre tanto na superfície quanto no interior das raízes, o que pode desencadear uma indução de resistência, causada pelo aumento de atividade enzimática por Medeiros et al., (2016). A resposta de defesa envolve moléculas do ácido salicílico e ácido jasmônico, que desencadeiam os fenômenos da resistência sistêmica adquirida (SAR) e da resistência sistêmica induzida (ISR), com papel no processo de sinalização de defesa da planta (Walters et al., 2013). Nesse contexto, as plantas desenvolvem estratégias para lidar com a presença do patógeno que, apresentam a capacidade de se

adaptar às condições do ambiente sensibilizando seu sistema de defesa, em resposta aos sinais do ambiente, esse mecanismo é definido como estado de “priming” (Pastor et al., 2013). Uma medida de exploração dessas rotas de sinalização de defesa na planta tem sido amplamente estudada com o objetivo de conhecer a interação de microrganismos benéficos no controle de patógenos de plantas (Kuhn & Pascholati, 2010; Pastor et al., 2013; Hermosa et al., 2013).

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficiência de isolados de *P. chlamydosporia* no controle biológico de *M. javanica*, na promoção de crescimento de mudas micropropagadas de bananeira Prata-Anã, na ativação das enzimas polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase da planta.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

## Experimento I – Controle Biológico

### Obtenção do inóculo de *M. javanica*

Os ovos de *M. javanica*, foram obtidos em raízes de tomateiros cultivados em casa-de-vegetação. Esses ovos foram extraídos segundo a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981). A suspensão aquosa contendo ovos do nematoide foi calibrada em câmara de Peters, sob um microscópio de luz, a fim de proporcionar a concentração final de 3000/mL inoculada em cada vaso (unidade experimental).

### Obtenção de *P. chlamydosporia*

Sete isolados de *P. chlamydosporia* (Tabela 1) utilizados no experimento foram obtidos na coleção do Laboratório de Controle de Fitonematoides da Universidade Federal de Viçosa. Esses isolados foram originalmente obtidos através da técnica de plaqueamento de solos infestados com nematoides das galhas sobre meio semi-seletivo para *P. chlamydosporia* (Gaspard et al., 1990).

**Tabela 1.** Origem dos isolados de *Pochonia chlamydosporia*

Isolado	Localidade	Plantas dominantes no campo
Pc-10	Viçosa/MG	Alface
Pc-18	Venda Nova do Imigrante/ES	Tomate
Pc-20	Viçosa/MG	Alface
Pc-42	Carmópolis/MG	Café
Pc-54	Mariópolis/PR	Quiabeiro
Pc-64	Alicante/Espanha	Sem informação
Pc-123	Alicante/Espanha	Sem informação

MG: Minas Gerais; ES: Espírito Santo; PR: Paraná.

Para a produção de clamidósporos, discos de meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA) contendo micélio de cada isolado foram transferidos separadamente para sacos plásticos contendo arroz autoclavado, que foram mantidos por 21 dias em sala de cultivo no ambiente escuro a 26°C. Após esse período, os clamidósporos de cada isolado foram extraídos do substrato de crescimento arroz por meio de lavagem e filtração em gaze e ajustada uma concentração em câmara de Neubauer sob um microscópio de luz, foi utilizado 5.000 clamidósporos por grama de solo em cada vaso.

### Obtenção de mudas micropropagadas

As mudas de banana (*Musa spp.*) cultivar Prata-Anã, com aproximadamente 30 cm de altura foram obtidas na Empresa Multiplanta, localizada no município de Andradas, no sul de Minas Gerais, Brasil.

### **Condução do Experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no campus da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, durante os meses de outubro do ano de 2015 a janeiro de 2016, com médias de temperatura do ar máximas e mínimas de 38 °C e 23 °C, respectivamente.

Vasos de plástico com capacidade de 3 litros foram preenchidos com substrato composto de solo argiloso horizonte C e areia grossa na proporção 1:1 (v:v) tratado com o fumigante Dazomet (precursor de isotiocianato de metila) incorporado a uma profundidade de 20 cm no solo, na dose de 50 g/cm<sup>2</sup>, em caixa fechada por 15 dias. O substrato de cada vaso foi tratado com um dos setes isolados de *P. chlamydsoporia* (Tabela 1), na forma de 5000 clamidósporos por grama de solo e infestado com 3000 ovos de *M. javanica*. Após 10 dias da infestação do solo, as mudas de banana foram transplantadas. O tratamento testemunha foi constituído de plantas apenas com nematoide no solo.

As plantas permaneceram por 60 dias em casa de vegetação após o transplantio. Para a avaliação do controle biológico, as variáveis avaliadas foram altura de parte aérea (APA), diâmetro do pseudocaule (DP), massa da raiz fresca (MRF), massa da parte aérea seca (MPAS), unidade formadora de colônia (UFC) do solo, número de galhas (NG) e número de ovos (NO) do nematoide por grama de raiz. Nesse experimento a testemunha consistiu de vasos sem fungo, apenas com ovos do nematoide.

### **Delineamento Experimental**

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo cada tratamento constituído por seis repetições e a parcela experimental foi constituída por um vaso com uma muda de banana. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias do tratamento comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

## **Experimento II – Promoção de Crescimento**

Os isolados fúngico e as mudas micropropagadas de bananeira tiveram a mesma procedência dos utilizados no experimento I.

### **Condução do Experimento**

A condução do experimento foi realizada de forma semelhante ao experimento I, exceto pela ausência de nematoides em todos os tratamentos e de que o tratamento testemunha consistiu, nesse experimento, de plantas sem aplicação de fungo.

As plantas permaneceram por 60 dias em casa de vegetação após o transplântio. Para avaliação da promoção de crescimento, as variáveis avaliadas foram APA, DP, MPAS, massa de raiz seca (MRS) e UFC.

### **Delineamento Experimental**

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo cada tratamento constituído por seis repetições e a parcela experimental foi constituída por um vaso com uma muda de banana. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias do tratamento comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

### **Experimento III – Determinação das atividades da PFO e FAL**

O isolado fúngico e as mudas micropropagadas de bananeira tiveram a mesma procedência dos utilizados nos experimentos I e II.

### **Obtenção do inóculo de *M. javanica***

O inóculo do nematoide foi composto por juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*, obtidos de ovos em raízes hospedeiras de tomateiro, cultivadas em casa-de-vegetação. Os J2 foram extraídos segundo a técnica de Funil de Baermann (1917). A suspensão de juvenis obtida foi calibrada em câmara de Peters, sob um microscópio de luz para 200 J2/mL inoculada em cada vaso (unidade experimental).

### **Condução do Experimento**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no campus da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, durante o mês de abril de 2016, com médias de temperatura do ar máximas de 32°C e mínimas de 18°C, respectivamente.

Vasos de plástico com capacidade de 1 litro foram preenchidos com solo e substrato Plantmax na proporção 1:1, (v:v) tratados sob as mesmas condições do experimento I e II. Cada vaso recebeu uma muda de banana de 15 cm de altura e aos 15 dias após o transplântio das mudas, foi adicionada ao solo e próximo das raízes, uma suspensão com a concentração final de 5.000 clamidósporos por grama de solo de *Pc-*

10 em cada vaso. Após 5 dias o solo recebeu 200 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo os tratamentos apenas o fungo (Pc-10), apenas o nematoide (Mj) e Pc+Mj, constituído por 3 repetições em três épocas de coleta (24, 96 e 168 horas). A atividade das enzimas polifenoloxidase (PFO) e fenilalanina amônia liase (FAL) de cada tratamento em cada época foram comparadas pelo teste Duncan a 5% de probabilidade.

#### **Determinação das enzimas Polifenoloxidase (PFO) e Fenilalanina amônia-liase (FAL)**

Para análise das enzimas PFO e FAL as três raízes por tratamento foram coletadas no tempo de 24, 96 e 168 horas após a infestação do solo com *M. javanica*. Em cada tempo as raízes foram coletadas, lavadas com água para eliminar os resíduos do solo, em seguida envoltas em papel alumínio e depositadas em nitrogênio líquido, sendo posteriormente armazenadas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

**Polifenoloxidase (PFO, EC 1.14.18.1):** Para extração da enzima PFO, amostras de raízes (200 mg) foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de polivinilpirrolidona (PVPP). O pó resultante da maceração foi homogeneizado com 2mL de solução de extração sendo essa constituída de ácido fenilmetil-sulfonilfluorídrico (PMSF) 1 mM, ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA) 0,1 mM e tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 10 minutos a 12000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Em todas as etapas os tubos de ensaio foram envoltos com papel alumínio e tampados. A atividade de PFO foi determinada nas condições descritas por Kar&Mishra (1976), porém omitindo o peróxido de hidrogênio na mistura de reação. A atividade da enzima foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de  $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Chance & Maehley, 1955).

**Fenilalanina amônia-liase (FAL, EC 4.3.1.5):** Para extração da enzima FAL, amostras de raízes (200 mg) foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de PVPP. O pó resultante da maceração foi homogeneizado com 20 mL de solução de extração sendo essa constituída de borato de sódio 0,05 M (pH 8,3), 300 mg de polivinilpirrolidona (PVP), 5,0 mM de  $\beta$ -mercaptoetanol e 1,0 mM de EDTA. O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 15 minutos a 7000 g por duas vezes nas mesmas condições. O sobrenadante foi utilizado na reação enzimática. Todas as etapas do processo foram executadas a  $4^{\circ}\text{C}$  ou em gelo. A atividade da FAL foi

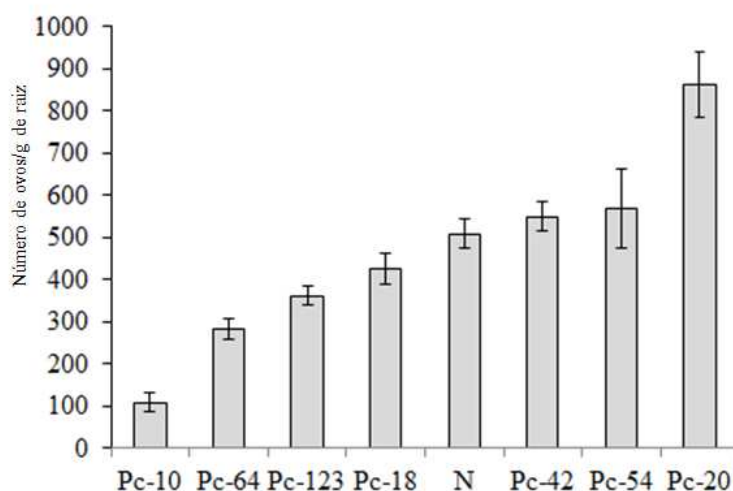
determinada por adição de 1mL enzima bruta (sobrenadante) a uma mistura de 1 mL de uma reação contendo tampão borato de sódio 0,2 M (pH 8,8) e 0,1 M de Lfenilalanina. As amostras foram incubadas a 30°C por 60 minutos e a reação foi parada com a adição de 0,1 mL de HCl 6N. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 290 nm (Kar & Mishra, 1976). A atividade da enzima foi calculada usando O coeficiente de extinção de  $10^4 \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$

**Determinações enzimáticas:** A concentração total de proteínas do extrato obtido de cada amostra foi determinada de acordo com o método de Bradford (1976) utilizando-se uma curva de solução padrão de BSA (Albumina de Soro Bovino).

## RESULTADOS

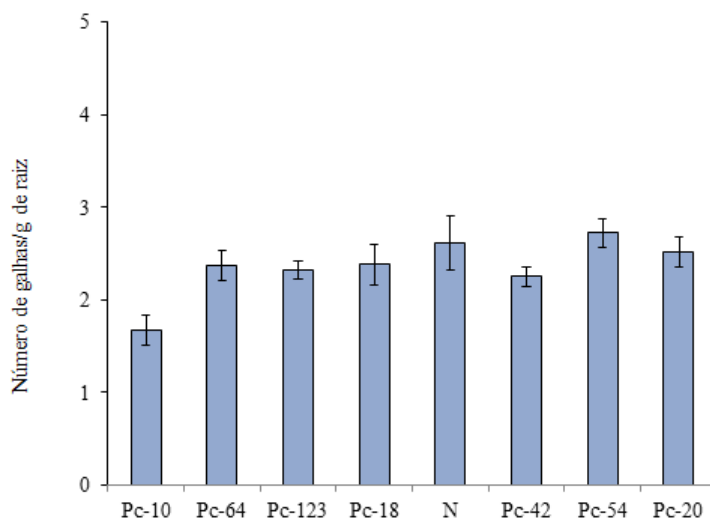
### Experimento I – Controle Biológico

Houve efeito significativo para os isolados de *P. chlamydsoporia* no controle de *M. javanica* (Figura 1). O número de ovos foi significativamente menor quando comparado com a testemunha para os isolados Pc-10, Pc-64, Pc-123 e Pc-18 respectivamente, quando comparado com a testemunha. Os isolados Pc-42, Pc-54 e Pc-20 proporcionaram um aumento do número de ovos em relação à testemunha.



**Figura 1.** Número de ovos/grama de raiz de banana cultivar Prata-Anã cultivadas em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica* e com isolados de *Pochonia chlamydsoporia*. N: tratamento testemunha, apenas com o nematoide.

Para a variável número de galhas, apenas Pc-10 apresentou diferença estatística quando comparado com outros isolados (Figura 2).



**Figura 2.** Número de galhas/grama de raiz de banana cultivar Prata-Anã cultivadas em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne javanica* e com isolados de *Pochonia chlamydsoporia*. N: tratamento testemunha, apenas com o nematoide.

As médias para as variáveis do desenvolvimento das plantas diferenciaram estatisticamente (Tabela 2). Os isolados Pc-10, Pc-18, Pc-20, Pc-42 e Pc-54 proporcionaram maiores ganhos para massa de parte aérea seca (MPAS), sendo que apenas Pc-64 e Pc-123 não se diferenciaram da testemunha. A massa de raiz fresca (MRF) e o diâmetro de pseudocaule (DP) não diferiu em nenhum dos tratamentos. Os tratamentos com Pc-10, Pc-18, Pc-42, Pc-54 e Pc-123 e Pc-20 proporcionaram ganhos de parte aérea (APA), enquanto que o isolado Pc-64 e a testemunha foram iguais.

Apesar da presença do nematoide influenciar na redução do desenvolvimento das plantas no presente estudo, o fungo *P. chlamydosporia* foi capaz de diminuir os efeitos destes nas plantas, como observado nas variáveis analisadas.

**Tabela 2.** Efeito de isolados de *Pochonia chlamydosporia* no desenvolvimento de mudas de banana Prata-Anã parasitadas por *Meloidogyne javanica*.

Tratamento	DP	APA	MRF	MPAS
Pc-10 + M.j	2,65 ab	86,00 a	88,20 a	53,92 a
Pc-18 + M.j	2,77 ab	90,50 a	93,36 a	62,33 a
Pc-20 + M.j	2,68 ab	84,00 ab	98,36 a	57,40 a
Pc-42 + M.j	2,72 ab	85,67 a	90,96 a	52,38 a
Pc-54 + M.j	2,75 ab	88,00 a	77,58 a	56,69 a
Pc-64 + M.j	2,47 b	79,00 bc	81,64 a	36,94 b
Pc-123 + M.j	2,93 a	85,67 a	78,04 a	35,48 b
Testemunha	2,66 ab	77,67 c	86,31 a	37,60 b

(M.j)

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não se diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Pc - *Pochonia chlamydosporia*; M.j - *Meloidogyne javanica*; DP - Diâmetro do pseudocaule; APA - Altura da parte aérea; MRF - Massa da raiz fresca; MPAS Massa da parte aérea seca.

A concentração do fungo *P. chlamydosporiano* solo não apresentou diferença significativa nos tratamentos com Pc-10, Pc-18 e Pc-20 quando comparado com os demais tratamentos. O isolado Pc-42 apresentou maior média de UFC em relação aos demais isolados (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número médio de unidades formadoras de colônias (UFC) de isolados de *Pochonia chlamydosporia* no solo com plantas parasitadas por *Meloidogyne javanica* 60 dias após a aplicação dos tratamentos com os diferentes isolados do fungo.

Tratamento	UFC
Pc-10 + M.j	91.666 b
Pc-18 + M.j	87.083 b
Pc-20 + M.j	91.250 b
Pc-42 + M.j	105.583 a
Pc-54 + M.j	69.000 c
Pc-64 + M.j	33.500 e
Pc-123 + M.j	56.833 d

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não se diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Pc - *Pochonia chlamydosporia*; M.j - *Meloidogyne javanica*; UFC (Número de unidades formadoras de colônia/g<sup>1</sup>de solo).

### Experimento II – Promoção de Crescimento

As médias dos tratamentos com isolados do fungo *P. chlamydosporia* apresentaram efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade para a promoção de crescimento da bananeira (Tabela 4). O isolado Pc-42 se destacou por proporcionar maior efeito significativo para a variável MRS quando comparado com os outros tratamentos, Pc-64 também promoveu aumento da biomassa de raiz seca se diferenciando da testemunha. Os outros isolados não apresentaram diferença estatística quando comparados com as plantas sem fungo.

**Tabela 4.** Efeito de isolados de *Pochonia chlamydosporia* na promoção de crescimento de mudas de banana Prata-Anã.

Tratamento	DP	APA	MPAS	MRS
Pc-10	2,56 ab	85,76 ab	33,03 d	5,05 bc
Pc-18	2,83 a	84,17 ab	45,32 abc	5,06 bc
Pc-20	2,72 ab	87,84 a	52,38 a	4,77 bc
Pc-42	2,67 ab	86,0 ab	40,43 abc	10,61 a
Pc-54	2,67 ab	78,17 bc	30,49 bcd	5,67 bc
Pc-64	2,43 b	82,67 abc	47,53 ab	6,44 b
Pc-123	2,35 bc	74,67 c	35,56 cd	5,30 bc
Testemunha	2,67 ab	86 ab	40,43 bcd	3,87 c

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não se diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Pc - *Pochonia chlamydosporia*; DP- Diâmetro do pseudocaule; APA - Altura da parte aérea; MPAS – Massa da parte aérea seca; MRS- Massa da raiz seca.

O isolado Pc-10 não apresentou diferença estatística nos tratamentos com Pc-54, Pc-123 e da testemunha para a variável MPAS, enquanto que o Pc-20 se diferenciou desses, proporcionando ganhos para essa variável. O isolado Pc-10 não promoveu aumento da MPAS neste experimento, na ausência de *M. javanica*, quando comparado com a testemunha, mas o fez na presença do nematoide, evidenciando seu poder de reduzir os efeitos deletérios do nematoide sobre o crescimento da planta (Tabela 2 e 4).

Na variável APA o isolado Pc-123 não diferiu de Pc-64 e Pc-54, neste experimento, na ausência de *M. javanica*, Pc-123 não promoveu aumento da altura da parte aérea quando comparado com a testemunha, mas o fez na presença do nematoide, evidenciando seu poder de reduzir os efeitos deletérios do nematoide sobre o crescimento da planta. Pc-20 não apresentou diferença significativa entre os isolados Pc-10, Pc-18, Pc-42, Pc-64 e a testemunha, o mesmo não foi observado no experimento I, o isolado Pc-20 proporcionou aumento para essa variável quando comparado com a testemunha (Tabela 2 e 4). O diâmetro do pseudocaule foi diferente nos tratamentos com Pc-18, Pc-42 e Pc-64, no entanto não foi observado diferença de todos os isolados com a testemunha.

Maior médias de UFC foi observada no solo com Pc-42 o mesmo resultado foi obtido no experimento I (Tabela 3 e 5). A concentração de *P. chlamydosporiano* solo não apresentou diferença significativa nos tratamentos Pc-54 e Pc-64, o mesmo ocorreu entre Pc-18, Pc-20 e Pc-123.

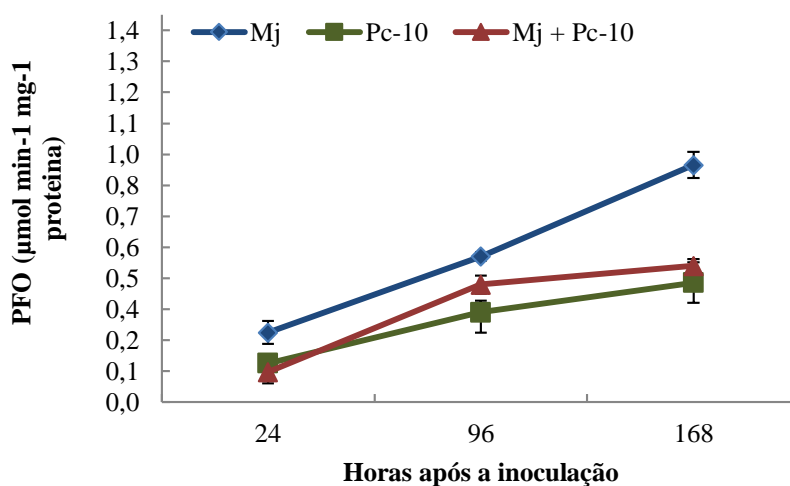
**Tabela 5.** Número médio de unidades formadoras de colônias (UFC) de isolados de *Pochonia chlamydosporia* presentes no solo com 60 dias após a aplicação dos tratamentos.

Tratamento	UFC
Pc-10	93.333 b
Pc-18	59.833 d
Pc-20	75.583 c
Pc-42	117.583 a
Pc-54	43.333 e
Pc-64	39.666 e
Pc-123	70.583 cd

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não se diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Pc - *Pochonia chlamydosporia*; UFC (Número de unidades formadoras de colônia/g<sup>1</sup>de solo).

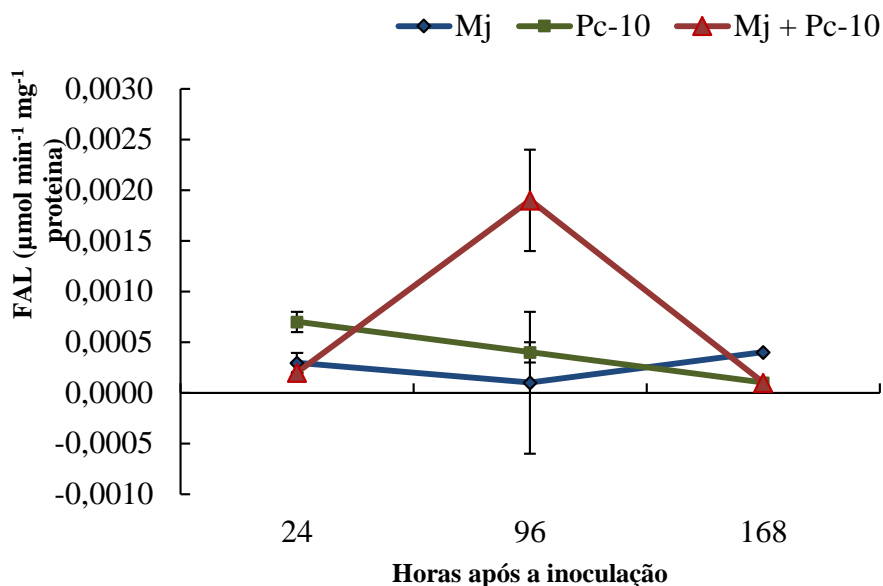
### Experimento III – Determinação das atividades de PFO e FAL

Após 24 horas da inoculação de *M. javanica*, a Polifenoloxidase (PFO) não apresentou diferença na atividade entre os tratamentos Mj+Pc-10 e Pc-10, enquanto que para Mj a expressão da atividade foi superior (Figura 1). Às 96 horas após da inoculação ocorreu aumento da concentração de PFO em todos os tratamentos, no entanto não foi observada diferença estatística entre os tratamentos. Esse crescimento da atividade enzimática foi observado também após 168 horas da inoculação, quando Mj+Pc-10 e Pc-10 não se diferenciaram, enquanto que no tratamento apenas com Mj houve um destacado aumento enzimático.



**Figura 1.** Monitoramento, ao longo do tempo, da atividade enzimática da polifenoloxidase (PFO) às 24, 96 e 168 horas após a infestação (hai) do solo com 200 juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* (Mj). Os tratamentos consistiram de plantas de banana em solo infestado apenas com *Pochonia chlamydosporia* (Pc-10), com Mj, ou com ambos Pc-10 e Mj. Os valores médios de atividade da PFO estão referenciados, em cada ponto, ao eixo das abscissas (valores médios do tratamento controle). Os dados foram submetidos à ANOVA e à comparação de médias pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ;  $n = 3$ ). Os asteriscos indicam diferença significativa entre os tratamentos referentes a cada tempo de coleta. A barra em cada ponto representa o erro padrão da média.

A atividade de enzimática de fenilalanina amônia-liase (FAL) foi baixa ao longo das avaliações (Figura 2). Após 24 horas da inoculação, plantas com Pc-10 apresentaram atividade dessa enzima superior aos tratamentos com Mj+Pc-10 e Mj que não se diferenciaram. Após 96 horas da inoculação ocorreu um pico de FAL em Mj+Pc-10, enquanto que em Pc-10 ocorreu uma redução da atividade, nesse tempo a atividade de Mj foi bem próximo a zero. Os tratamentos Mj+Pc-10 e Pc-10 reduziram os níveis de FAL às 168 horas após inoculação próximo de zero, por outro lado Mj aumentou a atividade nesse tempo.



**Figura 2.** Monitoramento, ao longo do tempo, da atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase (FAL) às 24, 96 e 168 horas após a infestação (hai) do solo com 200 juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne javanica* (Mj). Os tratamentos consistiram de plantas de banana em solo infestado apenas com *Pochonia chlamyosporia* (Pc-10), com Mj, ou com ambos Pc-10 e Mj. Os valores médios de atividade da PFO estão referenciados, em cada ponto, ao eixo das abscissas (valores médios do tratamento controle). Os dados foram submetidos à ANOVA e à comparação de médias pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ;  $n = 3$ ). Os asteriscos indicam diferença significativa entre os tratamentos referentes a cada tempo de coleta. A barra em cada ponto representa o erro padrão da média.

## DISCUSSÃO

Neste trabalho, 57% dos isolados em estudos apresentaram efeito de redução do número de ovos de *M. javanica* em mudas de banana em comparação com o tratamento testemunha, com maior relevância para o isolado Pc-10. O potencial para o biocontrole com *P. chlamydosporia*, evidenciado nesse trabalho, esta de acordo com o observado em outros estudos nos quais Pc-10 foi avaliado (Dalle-mole-Giaretta et al., 2008; Podestá et al., 2009; Bontempo et al., 2015; Viggiano et al., 2015). A redução do número de ovos do nematoide pelo fungo é um fator decisivo para o manejo da doença na cultura da banana. Esses resultados contribuem para o tratamento de raízes de bananeira com *P. chlamydosporia* dentro do sistema de produção de mudas, sendo essa alternativa uma proteção da raiz contra *M. javanica* no campo. Guimarães (2011) observou que as populações de *Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus multicinctus*, *Radopholus similis* e *Pratylenchus coffeae* foram reduzidas em áreas de cultivo comercial de bananeira Prata-Anã com aplicação dos agentes de biocontrole *P. chlamydosporia*, *Pasteuria penetrans*, e *Bacillus subtilis*.

O controle de ovos de *M. javanica* não foi observado em tratamentos com os isolados Pc-42, Pc-54 e Pc-20, mas apesar disso, esses isolados promoveram o crescimento das plantas, mensurado pelas variáveis APA e MPAS diminuindo os efeitos causados pelo nematoide. No experimento II, na ausência do nematoide, o isolado Pc-42 promoveu ganhos significativos de MRS, provavelmente, ao induzir o aumento do volume radicular na planta, esse fungo aumenta a área de superfície radicular para a infecção de juvenis do nematoide e, conseqüentemente, a maior penetração de juvenis e posterior produção de ovos. Resultado semelhante foi encontrado por Monteiro (2013) no qual *Duddingtonia flagrans* foi capaz de induzir a promoção de crescimento, mas não foi eficiente no controle de *M. javanica*.

Na redução do número de galhas por planta, apenas Pc-10 se diferenciou estatisticamente dos outros isolados. Esse resultado pode ser explicado pela maior eficiência desse isolado em colonizar os ovos no solo, reduzindo o número de J2 que penetram as raízes das plantas (Moosavi et al., 2010; Silva, 2015). Por outro lado, todos os outros isolados não apresentaram diferença no número de galhas. Os resultados desse estudo corroboram os encontrados por Dalle-mole-Giaretta (2008) no qual isolado de *P. chlamydosporia* não se diferenciaram no número de galhas, no entanto apresentaram diferença para variável número de ovos. Apesar de ter ocorrido formação de galhas radiculares incitadas pelo nematoide, no primeiro ciclo de vida desse patógeno, os

isolados que colonizavam as raízes puderam atuar sobre fêmeas, massa de ovos e ovos no solo a partir do segundo ciclo. Estudo com microscopia eletrônica de varredura revela que de hifas *P. chlamydosporia* colonizam ovos, massa de ovos e fêmeas adultas de *M. incognita* (Manzanilla-Lopez et al., 2014).

A promoção de crescimento vegetal observada nesse estudo está em consonância com os resultados de estudos anteriores (Borne et al., 1999; Flaherty et al., 2003; Moosavi et al., 2010; Muthulakshmi, et al., 2012). Rodriguez-Romero et al., (2007) também observaram controle de nematoides das galhas, crescimento da planta e absorção de nutrientes em mudas micropropagadas de banana, quando tratadas com agentes de controle biológico. A MRF não se diferenciou entre os isolados, no entanto esses isolados foram capazes de promover melhor desenvolvimento das mudas quando se observa as outras variáveis em comparação a testemunha. Resultados semelhantes no aumento da massa fresca de raízes de banana foram obtidos por Yang et al.,(2015), entretanto Souza et al.,(2014) não observaram diferença estatística no aumento de peso de raízes frescas em cana-de-açúcar com *M. incognita*.

No experimento II os isolados Pc-42, Pc-64 de *P. chlamydosporia* foram capazes de promover significativamente o crescimento radicular, observado em MRS. A interação desse fungo com o sistema radicular pode induzir mudanças na planta que está relacionado à regulação de genes nas vias do ácido salicílico e ácido abscísico, a sinalização está envolvida na promoção de crescimento (Larriba, 2015). Esse efeito foi observado também no experimento I, onde as plantas com Pc-42 tiveram maiores médias em APA e MPAS mesmo na presença do nematoide. Por outro lado, nesse estudo o isolado Pc-64 não promoveu o crescimento da bananeira infectada pelo nematoide. Apesar de não promover o desenvolvimento da planta na presença do nematoide, o isolado Pc-64 reduziu o número de ovos de *M. javanica*, assim como observado por Dallemole-Giaretta et al., (2012). A promoção de crescimento de tomateiro pelo isolado Pc-64 e outros isolados de *P. chlamydosporia*, na ausência de nematoide, também foi observada por Zavala-Gonzalez (2015), que além disso, observou a capacidade de produção de ácido indolacético (IAA) e a solubilização de fósforo. Esse mecanismo torna-se interessante no presente trabalho, pois nos dois experimentos pode-se observar grande variação de atividade nematófaga e de proporcionar o melhor desenvolvimento para as plantas.

O isolado Pc-64 também apresentou menor concentração no solo, medida pela UFC, nos dois experimentos. Apesar da baixa população no solo o efeito desse isolado no controle de ovos foi eficiente. Por outro lado, Pc-42 teve um aumento significativo da concentração no solo, no entanto não reduziu a população de *M. javanica*. A densidade desse fungo no solo pode ser variável dentro dos isolados (Moosavi et al., 2010; Dallemole-Giaretta et al., 2012). A presença do nematoide provavelmente pode estar relacionada com aumento da população para alguns isolados que foi observado no presente estudo. Entretanto, os isolados proporcionaram efeito de compensação na planta, apesar da presença do nematoide. Estudo com aplicação de agente biocontrole revela uma ferramenta interessante para o manejo de doenças na cultura da banana, a interação com as raízes produz o efeito de redução da doença e efeito de biofertilizantes (Yuan et al., 2013).

No estudo de atividade de enzimas, o aumento da atividade de PFO com o tempo foi semelhante para os tratamentos com o fungo, com e sem o nematoide, entretanto, no tratamento apenas com o nematoide a curva de crescimento da atividade da PFO foi muito mais acentuada, o que demonstra que o fungo *P. chlamydosporia* compensa o estresse oxidativo causado normalmente pelo nematoide das galhas na planta, já que essa enzima é catalizadora da oxidação de diversos fenóis (Mayer, 2006). *Meloidogyne* sp. é um endoparasita sedentário, e sua presença no sistema radicular causa danos celulares durante a migração e estabelecimento do sítio de infecção (Ji et al., 2015). Ngadze et al., (2012) relatam que maiores atividades de PFO estavam relacionadas à resistência a doenças em diversas variedades de batata e que esses metabólitos secundários envolvidos em mecanismos de defesa da planta desempenham um papel de tolerância a doença. No entanto, sendo essa variedade de banana Prata-Anã, suscetível a esse nematoide, o aumento da atividade de polifenoloxidase indica que o *M. javanica* causou danos celulares nas células radiculares das plantas. Bhauet et al. (2016) também observaram o aumento da atividade de polifenoloxidase na espécie *Pogostemon cablin* na presença de *M. incognita*.

A interação Mj+Pc-10 reduziu PFO devido a presença do fungo, isso pode ser associado a colonização do sistema radicular pelo fungo dias antes da inoculação do nematoide, com isso reduziu a penetração do número de juvenis de *M. javanica* nas raízes e com isso a atividade da enzima não apresentou diferença significativa em relação a plantas tratadas apenas com o fungo. A atividade de PFO teve um aumento considerável

aos cinco dias, na interação *P. chlamydosporia* com *M. javanica*, no entanto no primeiro e no terceiro dia, tratamentos com nematoide tiveram maior expressão dessa enzima (Lalezar, 2016). Esses resultados corroboram com esse estudo, podendo ser observado que no sétimo dia (Mj+Pc-10) não se difere do tratamento apenas com *M. javanica*.

Na primeira coleta, 24 hai, pode-se observar que *M. javanica* reduziu a atividade enzimática de FAL na interação (Mj+Pc-10), possivelmente o aumento dessa enzima observado no tratamento com o fungo pode estar relacionada a deposição de compostos de lignificação da parede celular das raízes. A lignificação é um polímero fenólico, que aumenta a atividade de fenilalanina, essa barreira foi induzida em plantas pelo fungo na presença do nematoide, que não foi observado apenas com *M. javanica*, podendo a planta não apresentar mecanismos de defesa contra o nematoide. A aplicação de indutores de resistência, cisjasmone, induz sistematicamente a atividade de PAL em resposta da presença de *M. javanica* em soja (Janegitz, 2012).

Enquanto que, às 96 hai o pico dessa enzima esteve relacionado à presença do nematoide, provavelmente a atividade foi alta devido à resposta de defesa induzida pelo fungo. Kamali et al., (2015) encontraram resultados muito semelhantes, estudaram o efeito de *Trichoderma harzianum* indução de resistência a *M. javanica* e *Fusarium sp.*, a expressão da FAL foi observada inicialmente alta apenas no agente de biocontrole, e com o tempo teve um pico com a interação nematoide e o fungo de controle biológico, apenas em nematoide o aumento foi observado no ultimo dia de avaliação. A fenilalanina amônia-liase está envolvida com a biossíntese de fenilpropanóis e participa da síntese de monômeros de lignina, que conferem resistência à parede, além de ácido salicílico, fitoalexinas e flavonoides, todos esses atua como sinalizadores de defesa (Gerasimova et al., 2005). Possivelmente, *P. chlamydosporia* teve a capacidade de aumentar a atividade dessa enzima durante a infecção do nematoide de galhas nas raízes de banana. A redução observada às 168 hai pode estar relacionada à menor ativação dessa via pelo fungo. Nesse período também observou-se que no tratamento apenas com *M. javanica* ocorreu um leve aumento de FAL quando comparado com os outros tratamentos. Esse comportamento pode estar relacionado a uma baixa resposta enzimática da planta, quando o nematoide já está em fase de estabelecimento do sitio de infecção.

Em conclusão, os isolados Pc-10, Pc-18, Pc-64 e Pc-123 de *P. chlamydosporia* reduzem a população de *M. javanica* em mudas de bananeira Prata-Anã

e, entre esses o isolado Pc-10 foi o mais eficiente. Existe uma variação no comportamento dos isolados de *P. chamydosporia* na promoção de crescimento de mudas, sendo que o isolado Pc-42 apresentou a maior concentração no solo. Ao colonizar as raízes, o isolado Pc-10 reduziu o estresse causado pelo nematoide nas plantas de banana, constatado pelas atividades de PFO e FAL.

## **REFERÊNCIAS**

AGGANGAN, N. S.; TAMAYAO, P. J. S.; AGUILAR, E. A.; ANARNA, J. A.; DIZON, T. O. 2013. ArbuscularMycorrhizal Fungi and Nitrogen Fixing Bacteria as Growth

Promoters and as Biological Control Agents Against Nematodes in Tissue-Cultured Banana var. Lakatan. Philippine Journal of Science Vol. 142 p.153-165.

ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. 2009. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.5, p.1558-1561.

BAERNMANN, G. 1917. Eine einfache method zur auffindung von ankylostomum (Nematoden) larven in erproben. *Ned. Indie*, v. 57, p. 131-137.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. 2009. *Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas*. Embrapa, Meio Ambiente, Jaraguari (SP), Ed. 1, p.16.

BHAU, B. S.; BITUPON, B.; RESHMA, A.; PHUKON, P.; GOGOI, B.; SARMAH, D. K.; LAL, M.; WANN, S. B. 2016. Influence of root-knot nematode infestation on antioxidant enzymes, chlorophyll II content and growth in *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 54, p.254-261.

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

BONTEMPO, A. F.; FERNANDES, R. H.; LOPES, J.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. 2015. *Pochonia chlamydosporia* controls *Meloidogyne incognita* on carrot. *Australasian Plant Pathology*, v. 43, p. 421-424.

BORGES, A. L.; SILVA, A. L.; BATISTA, D. da C.; MOREIRA, F. R. B.; FLORI, J. E.; OLIVEIRA, J. E. de M.; ARAÚJO, J. L. P.; PINTO, J. M.; CASTRO, J. M. da C.; MOURA, M. S. B.; AZOUBEL, P. M.; CUNHA, T. J. F.; SILVA, S. de O.; CORDEIRA, Z. J. M. 2009. *Sistema de Produção da Bananeira Irrigada*. Embrapa cap.13. p.129.

BOURNE, J. M., KERRY, B. R., GALLOWAY, J., SMITH, C., MARCHESE, G., 1999. Evaluation of application techniques and materials for the production of *Verticillium chlamydosporium* in experiments to control root-knot nematodes in glasshouse and field trials. *Int. J. Nematol.* v.9, p.153-162.

BRADFORD, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A. C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, v. 2, p. 764-775.

- COSTA, D. C. 2000. Doenças causadas por nematoides. In: Cordeiro, Z.J.M. Banana. Fitossanidade. Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas, BA). Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p.66-77.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; FERRAZ S.; NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; COUTINHO, M. M. 2008. Efeito da concentração de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, v.32, p.327–332
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. L.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S. 2012. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrolagens of *Meloidogyne javanica*. *Crop Protection*. v.42, p:102-107.
- FAO. 2014. Banana Market Review and Banana Statistics 2012-2013. Food And Agriculture Organization Of The United Nations Roma.
- FLAHERTY, O. S. M.; HIRSCH, P. R.; KERRY, B. R. 2003. The influence of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*, the nematicide aldicarb and the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* on heterotrophic bacteria in soil and the rhizosphere. *Journal of Soil Science*, v. 54, p. 759–766.
- GASPARD, J. T., JAFFEE, B. A., FERRIS, H. 1990. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. *J. Nematol.* v.22, p. 207-213.
- GERASIMOVA, N. G.; PRIDVOROVA, S. M.; OZERETSKOVSKAYA, O. L. 2005. Role of L-phenylalanine ammonia-lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v.41, p.103-105.
- GUIMARÃES, C. P. 2011. Controle biológico de fitonematoides na cultura da bananeira no Norte de Minas Gerais. Dissertação, Universidade Estadual de Montes Claros campus Janaúba. p.90
- HALLMANN, J.; DAVIES, K. G.; SIKORA, R. 2009. Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: Perry, R.N., Moens, M., Starr, J.L. (Eds.), *Root-knot Nematodes*. CAB International, Wallingford, p. 380-411.
- HERMOSA, R.; RUBIO, M. B.; CARDOZA, R. E.; NICOLÁS, C.; MONTE, E.; GUTIÉRREZ, S. 2013. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *INTERNATIONAL MICROBIOLOGY*, v. 16, p. 69-80.
- HUANG, W. K.; CUI, J. K.; LIU, S. M.; KONG, L. A.; WU, Q. S.; PENG, H.; HE, W. T.; SUN, J. H.; PENG, D. L. 2016. Testing various biocontrol agents against the root-

knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in cucumber plants identifies a combination of *Syncephalastrum racemosum* and *Paecilomyces lilacinus* as being most effective. *Biological Control*, v. 92, p.31-37.

JANEGITZ, T. 2012. Efeitos de cis-jasmone na indução de compostos fenólicos em genótipos de soja, inoculados ou não com *Meloidogyne javanica*. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual de Maringá, UEM, Brasil. 62p.

JANSSON, H. B.; LOPEZ-LLORCA, L. V. 2001. Biology of nematophagous fungi. In: MISHRA, J. D.; HORN, B. W. (Ed.) *Trichomyces and other fungal groups: Professor Robert W. Lichtwardt commemoration volume*. Enfield: Science Publisher. p. 145-173.

JI, H.; KYNDT, T.; HE, W.; VANHOLME, B.; GHEYSEN, G. 2015.  $\beta$ -aminobutyric acid-induced resistance against root-knot nematodes in rice is based on increased basal defense. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 28, nº 5, p. 519-533.

KAMALI, N.; POURJAM, E.; SAHEBANI, N. 2015. Elicitation of defense responses in tomato against *Meloidogyne javanica* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* wilt complex. *Journal of Crop Protection*, v. 4, p.29-38.

KAR, M.; MISHRA, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, v. 57, p. 315-319.

KERRY, B. R., 1995. Ecological considerations for the use of nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium*, to control plant parasitic nematodes. *Canadian Journal of Botany* is now published as *Botany* v. 73, p.65-70.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. 2010. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. *Summa Phytopathol., Botucatu*, v. 36, n. 2, p. 107-114.

LALEZAR, M.; MOOSAVI, M. R.; HESAMI, A. 2016. Changes in Zucchini defense responses against *Meloidogyne javanica* (Rhabditida: Meloidogynidae) induced by *Pochonia chlamydosporia*. *Munis Entomology & Zoology*, v. 11, p. 151-159.

LARRIBA, E.; JAIME, M. D. L.; NISLOW, C.; MARTIN-NIETO, J.; LOPEZ-LLORCA, L. V. 2015. Endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* reveals plant growth promotion and a general defense and stress transcriptomic response. *Journal of Plant Research*, v. 128, p.665-678.

- LUAMBANO, N. D.; NARLA, R.D.; WANJOHI, W. J; KIMENJU, J. W.; KERRY, B. R. 2015. Integrated management of root-knot nematodes in a tomato-maize crop system using the biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Crop Protection*, v. 71, p. 45–50.
- MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; DEVONSHIRE, J.; WARD, E.; HIRSCH, P. R. 2014. A combined cryo-scanning electronmicroscopy/cryoplaning approach to study the infection of *Meloidogyne incognita* eggs by *Pochonia chlamydosporia*. *Nematology*, v.16, p. 1059-1067.
- MAUCHLINE, T. H.; KERRY, B. R.; HIRSCH, P. R. 2003. The biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia* shows nematode host preference at the infraspecific level. *Mycological Research*. v. 108 (2): p. 161–169.
- MAYER, A. M. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review, *Phytochemistry*, v. 67, n.21, p. 2318-2331
- MEDEIROS, H. A. RESENDE, R.S.; FERREIRA, F.C.; FREITAS, L.G.; RODRIGUES, F.A. 2016. Induction of resistance in tomato against *Meloidogyne javanica* by *Pochonia chlamydosporia*. *Nematoda*, v. 2, p. 10015-10022.
- MONTEIRO, T. A. 2013. Controle biológico do nematoide das galhas, *Meloidogyne javanica*, e promoção de crescimento vegetal com os fungos *Pochonia chlamydosporia* e *Duddingtonia flagrans*. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa (MG), 66 p.
- MOOSAVI, M. R.; ZARE, R.; ZAMANIZADEH, H. R.; FATEMY, S. 2010. Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 104, n. 2, p. 125-133.
- MUTHULAKSHMI, M.; KUMAR, S.; SUBRAMANIAN, S.; ANITA, B. 2012. Compatibility of *Pochonia chlamydosporia* with other biocontrol agents and carbofuran. *Journal of Biopesticides*, v. 5 p. 243 -245.
- NGADZE, E.; ICISHAHAYO, D.; COUTINHO, T. A.; VAN D. W. J. E. 2012. Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. *Plant Disease* v.96, p. 186-192.
- NEVES, W. S.; DIAS, M. S. C.; BARBOSA, J. G. 2009. Flutuação Populacional de Nematoides em Bananais de Minas Gerais e Bahia (Anos 2003 a 2008). *Nematologia Brasileira*. Vol. 33(4), p.281-285.
- PASTOR, V.; LUNA, E.; MAUCH-MANI, B.; TON, J.; FLORS, V. 2013. Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany*, v. 94, p. 46-56.

- PODESTÁ G. S.; DALLEMOLE-GIARETTA R.; FREITAS L. G.; LOPES E. A.; FERRAZ S.; ZOOCA R. J. F. 2009. Atividade nematófaga de *Pochonia chlamydosporia* em solo natural ou autoclavado sobre *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, v.33, p.191–193.
- PODESTÁ, G. S.; FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; CAIXETA, L. B.; FERRAZ, S. 2013. *Meloidogyne javanica* control by *Pochonia chlamydosporia*, *Gracilibacillus dipsosauri* and soil conditioner in tomato. *Summaphytopathol*, vol.39, no.2, p.122-125.
- RITZINGER, C. H. S. P.; COSTA, D. da C. 2004. 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.
- ROMERO, A. S. R.; BADOSA, E.; MONTESINOS, E.; VEGA, M. C. J. 2007. Growth promotion and biological control of root-knot nematodes in micropropagated banana during the nursery stage by treatment with specific bacterial strains. *Association of Applied Biologist*, v. 152, p. 41–48.
- SANTOS, B. H. C.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; SANTOS NETO, J. A.; MOTA, V. J. G. 2013. Controle de *Meloidogyne javanica* em mudas de Bananeira ‘Prata-Anã’ por compostos orgânicos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v.35, n.2, p.650-656.
- SILVA, R. J.; CORDEIRO, Z.J.M.2000. Fitossanidade na exportação da Banana. In: *Banana Fitossanidade*. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Brasília, DF. p:9-14. v. 8
- SILVA, S. D. 2015. Avaliação da patogenicidade de isolados de *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinum* sobre ovos de *Meloidogyne enterolobii*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (DF), 109 p.
- SOUZA, C. C. M.; PEDROSA, E. M. R.; ROLIM, J. V. P. F.; SOUZA, M. A. L. M. 2014. Influência da densidade do solo infestado por nematoide no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar. *Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.18, n.5, p.475–479.
- VIEIRA, L. M. 2013. Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina – 2012/2013. Epagri/Cepa. Florianópolis (SC), p.18 (Circular Técnica 34).
- VIGGIANO, J. R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. 2015. *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Goddard) Zare& W. Gams for the management of lettuce infected with

*Meloidogyne javanica* (Treub, 1885). CHILEAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH, v. 75, p. 255-258.

VIZZOTO, M.; KROLOW, C.; WEBER, G.E.B. 2010. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Documentos, 316. 16 p.

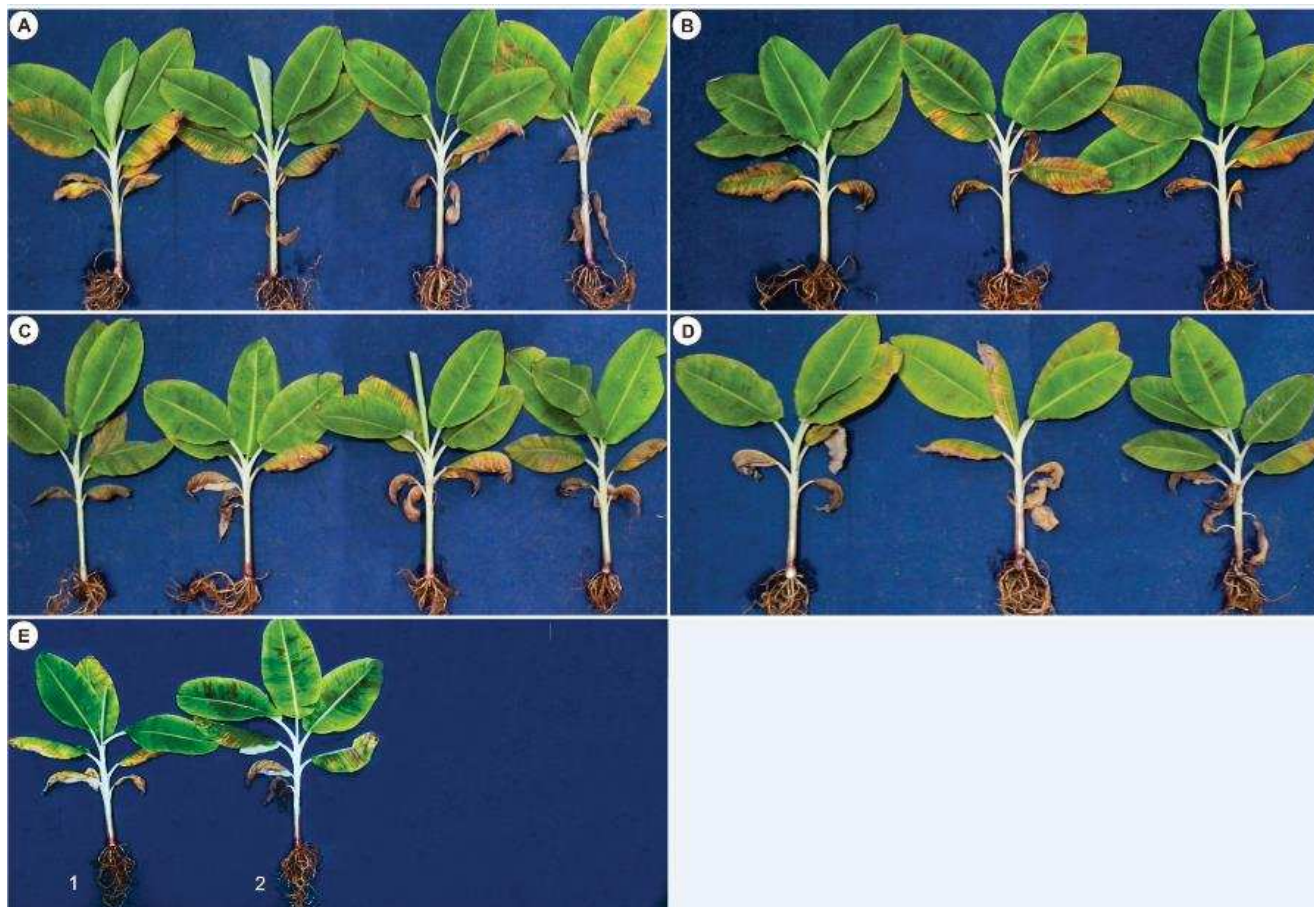
WALTERS, D. R.; RATSEP, J.; HAVIS, N. D. 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. Journal of Experimental Botany, v. 64, n. 5, p. 1263-1280.

YANG, X.; WANG, X.; WANG, K.; SU, L.; LI, H.; LI, R.; SHEN, Q. 2015. The nematicidal effect of Camellia seed cake on root-nematode *Meloidogyne javanica* of banana. Published: April 7, 2015: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119700>.

YUAN, B. W. J.; ZHANG, J.; SHEN, Z.; ZHANG, M.; LI, R.; RUAN, Y.; SHEN, Q. 2013. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of Fusarium wilt of banana. Biology and Fertility of Soils, v. 49, p. 435-446.

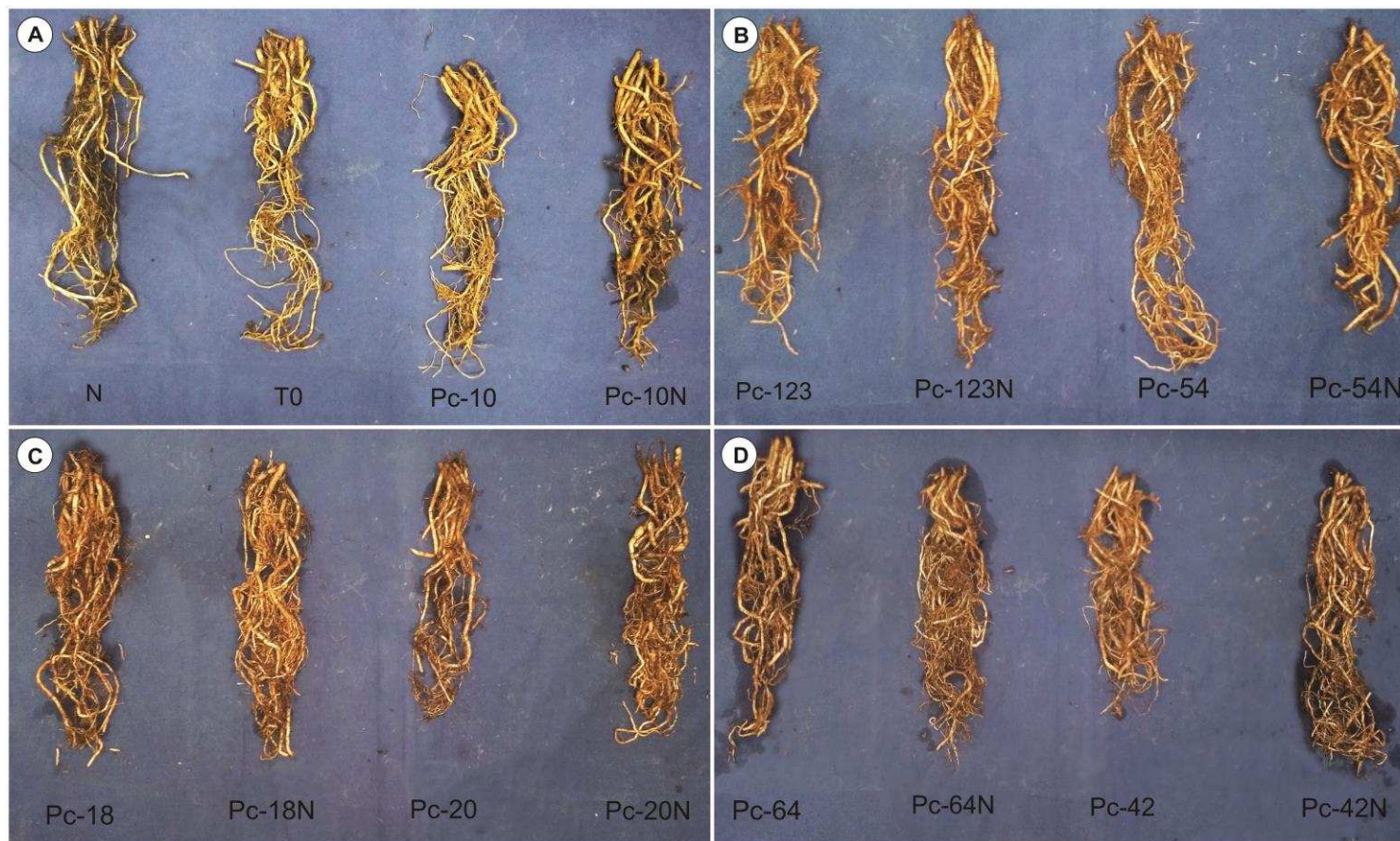
ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; ESCUDERO, N.; LOPEZ-MOYA, F.; ARANDA-MARTINEZ, A.; EXPOSITO, A.; RICAÑO-RODRÍGUEZ, J.; NARANJO-ORTIZ, M.A.; RAMÍREZ-LEPE, M.; LOPEZ-LLORCA, L.V. 2015. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. Annals of Applied Biology, v. 166, p. 472-483.

**Anexo I.** Plantas de banana Prata-Anã cultivadas em casa de vegetação por dois meses.



**A.** Plantas com isolado Pc 10; Pc 123; Pc 54 e Pc 18 com *M. javanica*; **B.** Plantas com isolado Pc 20; Pc 64 e Pc 42 com *M. javanic* **C.** Plantas com isolado Pc 10; Pc 123; Pc 54 e Pc 18; **D.** Plantas com isolado Pc 20; Pc 64 e Pc 42; **E.** **1.** Planta com *M. javanica*; **2.** Planta sem *P. chlamydosporia* e sem *M. javanica*.

**Anexo II.** Raízes de banana Prata-Anã cultivadas em casa de vegetação por dois meses.



**A.** Raiz com *M. javanica*; Raiz sem fungo e sem nematoides; Raiz com Pc 10; Pc 10 com *M. javanica*. **B.** Raiz com isolado Pc 123; Raiz com isolado Pc 123 e *M. javanica*; Raiz com isolado Pc 54; Raiz com isolado Pc 54 e *M. javanica*. **C.** Raiz com isolado Pc 18; Raiz com isolado Pc 18 e *M. javanica*; Raiz com isolado Pc 20; Raiz com isolado Pc 20 e *M. javanica*. **D.** Raiz com isolado Pc 64; Raiz com isolado Pc 64 e *M. javanica*; Raiz com isolado Pc 42; Raiz com isolado Pc 42 e *M. javanica*.