



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS HUMANAS - CAMPUS IX
BACHAREL EM ENGENHARIA AGRONÔMICA

**CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DE GALHAS NA ALFACE COM
FUNGOS PREDADORES DE NEMATOIDES OBTIDOS DOS SOLOS DO CERRADO
BAIANO**

RAFAELA RIBEIRO SANTOS

BARREIRAS-BA

2023

RAFAELA RIBEIRO SANTOS (121820198)

**CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DE GALHAS NA ALFACE COM
FUNGOS PREDADORES DE NEMATOIDES OBTIDOS DOS SOLOS DO CERRADO
BAIANO**

Monografia apresentada ao Colegiado de Engenharia Agrônômica da Universidade do Estado da Bahia - UNEB - Campus IX, como requisito parcial para avaliação do Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Agrônômica. Sob orientação do Professor Dr. João Luiz Coimbra.

BARREIRAS-BA

2023

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS HUMANAS - CAMPUS IX
BACHAREL EM ENGENHARIA AGRONÔMICA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DE GALHAS NA ALFACE COM
FUNGOS PREDADORES DE NEMATOIDES OBTIDOS DOS SOLOS DO CERRADO
BAIANO**

AUTORA: RAFAELA RIBEIRO SANTOS

ORIENTADOR: Dr. João Luiz Coimbra

Banca Examinadora:



Dr. João Luiz Coimbra

Engenheiro agrônomo pela Universidade Federal de Lavras; Mestre e Doutor em Fitopatologia pela Universidade Federal de Lavras; Professor Titular da Universidade do Estado da Bahia



Dr.ª Daniela Rossato Stefanelo

Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Santa Maria; Doutora em Fitopatologia pela Universidade de Brasília; Professora da Universidade do Estado da Bahia.



Dr. Tadeu Cavalcante Reis

Engenheiro agrônomo pela Universidade Federal da Bahia; Mestre em Agronomia pela Universidade de São Paulo; Doutor em Agronomia pela Universidade de São Paulo; Professor adjunto da Universidade do Estado da Bahia.

Data de realização 27/11/2023

Este trabalho é dedicado à minha Mãe, por todo amor, empregos ultrajantes, humilhações sofridas e renúncias intermináveis aos seus próprios sonhos para que eu pudesse vivenciar os meus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe Ivânia, por ter possibilitado essa oportunidade em minha vida, por todo suporte, amor, incentivo e paciência ao longo de toda a minha trajetória. Você é sem dúvida a razão de eu ter chegado até aqui.

À minha irmã Gabriella, por ter sido uma fonte inesgotável de apoio, mesmo quando a distância física entre nós parecia maior do que a lista de leituras obrigatórias!

Ao meu irmão Samuel (*in memoriam*), que me amou e apoiou apesar das inúmeras férias adiadas, e de todos os aniversários e natais em que estive ausente! Queria que tivéssemos tido mais tempo.

Ao meu amor, Tom, por toda dedicação e reciprocidade ao longo desses anos. Por fazer questão - mesmo em meio às tempestades, de estar ao meu lado e caminhar junto. É um privilégio dividir essa conquista e a minha vida com você.

À minha incrível amiga Ana Karoline B. Cosme, com quem compartilhei risos e puxões de orelha quando necessário. Obrigado pelas reuniões de estudo que mais pareciam sessões de terapia. Você é como um combo de diversão e sabedoria, sua amizade é um presente.

À minha querida amiga Jaqueline Oliveira Santos, por todo apoio e ajuda nos momentos de dificuldade e provas sem fim, em que nossas sanidades foram desafiadas de maneiras que dariam um ótimo roteiro para uma comédia - ou um drama! Sem você, essa jornada teria sido muito mais chata e sem dúvida muito menos emocionante.

Um agradecimento especial ao meu orientador Dr. João Luiz Coimbra, que se manteve paciente, confiante e de bom humor, mesmo quando minhas ideias pareciam fora do contexto. Muito obrigada por sempre ouvir minhas teorias mirabolantes e responder com encorajamento, sua amizade e dedicação foram fundamentais para realização deste trabalho.

À todos os professores da Universidade do Estado da Bahia – Campus IX, que contribuíram para minha formação.

Aos funcionários da Uneb, Francisco e Carlos por todo carinho e incentivo.

A todos vocês, meu mais profundo obrigado!

RESUMO

Há diversos problemas fitossanitários na cultura da alface, com destaque para as doenças causadas por nematoides das galhas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de dois isolados de fungos predadores de nematoides, obtidos no Cerrado baiano, quando aplicados de forma individual ou em combinação, no controle do nematoide das galhas na cultura da alface. Os dois isolados de fungos foram multiplicados em placas de Petri contendo meio CMA e incubados a 25°C em uma câmara de crescimento do tipo BOD, por um período de 10 dias. Após esse intervalo, no interior de uma câmara de fluxo laminar, as placas foram abertas e, utilizando um furador de rolha, foram obtidos 150 discos pré-colonizados com os fungos. Em seguida, esses discos foram colocados no interior de um saco plástico contendo aproximadamente 1000g de um substrato comercial do tipo vermiculita e mantidos em temperatura ambiente por 7 dias. Após esse período, o substrato infestado com os fungos predadores de nematoides foi colocado em bandejas de mudas do tipo tubetes, e a semeadura da alface foi realizada, com a colocação de 7 sementes por tubete, seguida de um desbaste. Quinze dias após a semeadura da alface, foi realizado o transplante das mudas para sacos plásticos contendo substrato esterilizado, composto por uma mistura de solo, esterco bovino e areia na proporção de (2:1:1). Quinze dias após o transplante, houve a infestação dos substratos com 3000 ovos de *M. incognita*, através da realização de dois furos ao lado de cada muda e a aplicação dos ovos com auxílio de uma pipeta automática. Para os tratamentos com a combinação dos isolados fúngicos foi realizada a aplicação de cerca de 30 ml de filtrado, obedecendo um intervalo de quinze dias após a infestação do substrato com nematoides. Após cinquenta dias da semeadura da alface, procedeu-se à avaliação do número de galhas, da massa de ovos e ovos no sistema radicular da alface, e à medição da altura da parte aérea da planta. Os dois isolados fúngicos testados demonstraram potencial para reduzir significativamente o parasitismo do nematoide das galhas na cultura da alface e promover o aumento do crescimento vegetativo da planta, podendo ser utilizados isoladamente ou em combinação.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L; *Meloidogyne incognita*; *Arthrobotrys* spp.; Cerrado.

ABSTRACT

There are various phytosanitary problems in lettuce cultivation, with gall nematode diseases being a prominent concern. The aim of this study was to assess the effectiveness of two isolates of nematode-predatory fungi, obtained from the Brazilian Cerrado, when applied individually or in combination, in controlling gall nematodes in lettuce crops. The two fungal isolates were multiplied in Petri dishes containing CMA medium and incubated at 25°C in a BOD-type growth chamber for 10 days. After this period, within a laminar flow chamber, the Petri dishes were opened, and using a cork borer, 150 pre-colonized fungal disks were obtained. These disks were then placed in plastic bags containing approximately 1000g of commercial vermiculite substrate and kept at room temperature for 7 days. After this time, the substrate infested with nematode-predatory fungi was placed in seedling trays of the tubular type, and lettuce seeds were sown with 7 seeds per tube, followed by thinning. Fifteen days after lettuce sowing, the seedlings were transplanted into plastic bags containing sterilized substrate, composed of a mixture of soil, cattle manure, and sand in a 2:1:1 ratio. Fifteen days after transplantation, the substrates were infested with 3000 eggs of *M. incognita* by making two holes next to each seedling and applying the eggs with an automatic pipette. Fifty days after lettuce sowing, an evaluation was conducted on the number of galls, egg mass, and eggs on the lettuce's root system, and the above-ground part's height was measured. The two fungal isolates tested showed the potential to significantly reduce gall nematode parasitism in lettuce cultivation and increase the plant's vegetative growth, whether used individually or in combination.

Keywords: *Lactuca sativa* L; *Meloidogyne incognita*; *Arthrobotrys* spp.; Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Ciclo do nematoide das galhas na alface..... 14
- Figura 2** - A - método do espalhamento de solo descrito por Barron (1977) e modificado por Santos (1991); B - desenvolvimento fungico e a presença de nematoide capturado..... 16
- Figura 3** - A - raízes trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos, B - suspensão de ovos, retida na peneira de 400 mesh..... 17
- Figura 4** - A - obtenção de discos pré colonizados com os fungos 1 e 2; B- frascos do tipo Erlenmeyer contendo meio de cultura líquido BD (caldo de batata + dextrose)..... 18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos tratamentos.....	18
Tabela 2 - Efeito de dois isolados de fungos predadores de nematoides, obtidos do cerrado baiano sobre a altura da parte aérea, galhas e ovos por grama de raiz na cultura da alface inoculada com <i>M. incognita</i>	20

LISTA DE ABREVIATURAS

BDA – Batata, Dextrose e Água.

BOD – Biochemical Oxygen Demand, equipamentos do tipo estufa incubadora concebido para incubar testes.

AA – Ágar e água.

NVL – Nematoides de Vida Livre.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Caracterização da alface (<i>Lactuca sativa L.</i>).....	13
2.2 Doenças da alface	13
2.2.1 Nematóide das galhas (<i>Meloidogyne spp.</i>) na cultura da alface.....	14
2.3 Controle biológico	15
2.3.1 Fungos nematófagos.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Isolamento de fungos nematófagos.....	16
3.2 Multiplicação do nematóide das galhas.....	17
3.3 Obtenção dos filtrados de fungos nematófagos.....	18
3.4 Montagem do experimento	18
3.5 Avaliação do experimento	19
3.6 Análise de dados	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5 CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa L.*) é uma das hortaliças mais importantes economicamente para o Brasil. É consumida crua na forma de salada, além de ser muito atrativa para os horticultores pela facilidade de cultivo e pela precocidade (Pimenta; Carneiro, 2002).

São diversos os problemas fitossanitários responsáveis por perdas na produção de alface no campo, destacando-se doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides. Entre os fitonematoides parasitas da alface, destacam-se aqueles do gênero *Meloidogyne*, especialmente as espécies *M. incognita* (Kofoid & White, 1919).

Por se tratar de uma cultura de ciclo curto, o controle químico com nematicidas não é recomendado, devido os efeitos residuais desses produtos na planta. De acordo com Bettiol e Ghini (2001), o uso intensivo de pesticidas na agricultura tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais; a intoxicação de agricultores; a resistência de patógenos, e a redução da biodiversidade.

Sendo o controle biológico de nematoides uma alternativa mais viável e baseada na utilização de microrganismos vivos, como fungos e bactérias, que apresentam efeito antagônico sobre o nematoide promovendo redução populacional do fitopatógeno (Soares et al., 2017).

Dentre os microrganismos empregados no manejo biológico de nematoides, o uso de fungos predadores conhecidos pela capacidade de produzir estruturas de captura destes patógenos no solo, vem apresentando resultados promissores (Araújo, 2021). No entanto, apesar da potencialidade dos fungos predadores em controlar nematoides, a maioria dos trabalhos de controle biológico envolvendo fungos, vem sendo realizados quase que exclusivamente com os parasitas de ovos e fêmeas como *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinus*.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de dois isolados de fungos predadores de nematoides, obtidos no Cerrado Baiano, combinados ou de forma isolada em controlar o nematoide das galhas na cultura da alface.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Caracterização da alface

A alface é uma planta anual de crescimento baixo, geralmente com folhas verdes, embora também haja variedades coloridas. Suas folhas podem ter diferentes formas, como lisas ou crespas. A parte comestível são as folhas, que têm um sabor suave e produz flores amarelas, mas é colhida antes da floração para evitar amargor (Pinheiro, 2017).

Trata-se de uma cultura com importância econômica significativa no Brasil e é amplamente cultivada em todo o país. É uma das hortaliças mais populares e consumidas no país, de forma que sua produção ocorre ao longo de todo o ano, graças às diferentes variedades e às diferentes condições climáticas em várias regiões do Brasil, sendo uma das hortaliças mais cultivadas pelos agricultores brasileiros, tanto em pequena quanto em grande escala estando suscetível a diversos problemas fitossanitários, como doenças, pragas e distúrbios relacionados ao crescimento (Dias-Arieira, 2011).

Apesar do avanço tecnológico, os produtores de alface do Cerrado baiano demonstram cautela ao investir em tecnologia, visando evitar um incremento nos custos de produção que poderia impactar as margens de lucro. Os produtores buscam equilibrar a implementação de inovações tecnológicas, como automação e monitoramento, com a necessidade de manter uma gestão financeira sustentável. Dessa forma, a decisão de adotar novas tecnologias está intrinsecamente ligada à busca por melhorias na eficiência operacional, sem comprometer a viabilidade econômica da produção de alface (Reis, 2023).

2.2 Doenças da Alface

As doenças da alface podem ser causadas por diversos patógenos, como fungos, bactérias e vírus, que podem afetar as folhas, as raízes e outras partes da planta. No entanto, dentre os problemas fitossanitários mais comuns que afetam a alface estão os nematóides, que são vermes microscópicos de solo e podem atacar as raízes das plantas, causando danos às plantas hospedeiras, incluindo a alface. Os nematóides mais comuns que afetam a alface são os nematóides das galhas (*Meloidogyne spp.*) e os nematóides das lesões radiculares (Miyamoto et al., 2017).

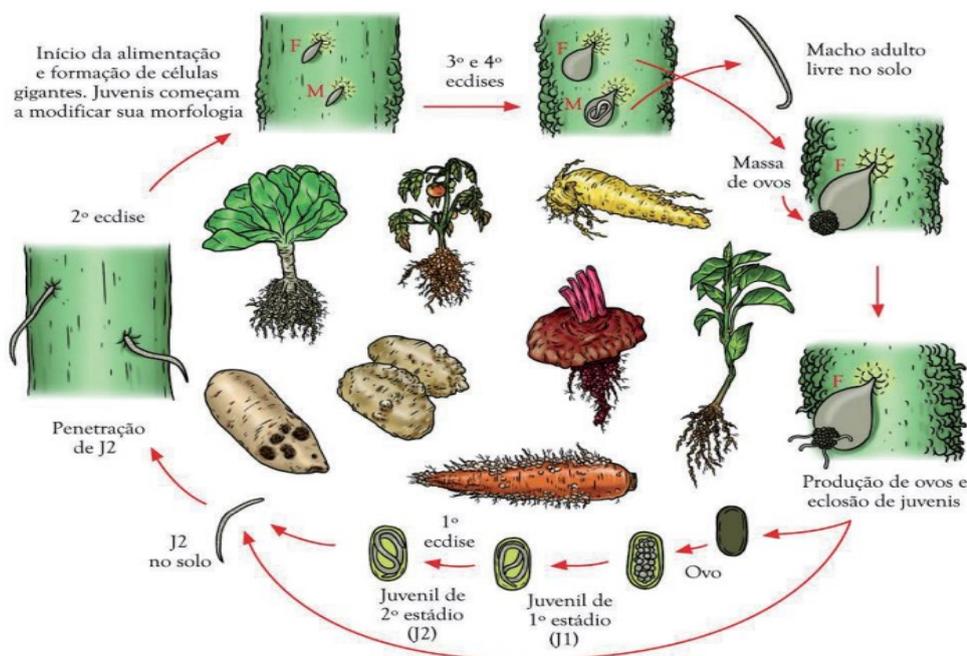
Os nematóides de galhas atacam as raízes da alface, formando galhas nas raízes, prejudicando a capacidade da planta de absorver nutrientes e água do solo, resultando em um crescimento deficiente e plantas enfraquecidas.

2.2.1 Nematóide de galhas (*Meloidogyne spp.*) na cultura da alface

O nematóide de galhas (*Meloidogyne incognita*) é uma das espécies de nematóides mais comuns e prejudiciais que afetam a cultura da alface e muitas outras plantas cultivadas em todo o mundo (Pinheiro, 2017).

Esses nematóides parasitas das raízes podem causar sérios danos às plantas de alface e resultar em prejuízos econômicos significativos para os produtores. O nematóide das galhas ataca as raízes da alface, causando a formação de galhas ou inchaços nas raízes (figura 1). Isso interfere na capacidade da planta de absorver água e nutrientes do solo, resultando em um crescimento reduzido da planta (Gomes et al., 2016).

Figura 1. Ciclo do nematóide de galhas.



Fonte: Embrapa Hortaliças, 2017.

À medida que os nematóides causam danos às raízes, as plantas de alface podem exibir sintomas de estresse, como amarelecimento das folhas, murcha durante o dia e recuperação noturna limitada. Danos que podem resultar em uma redução significativa na produção de alface. As cabeças de alface podem ficar menores e menos desenvolvidas, e a qualidade das folhas pode ser comprometida (Miamoto et al., 2017).

Além do que, plantas de alface afetadas por nematóides podem levar mais tempo para atingir a maturidade, o que atrasa a colheita e reduz o rendimento, e as tornam mais suscetíveis a outras doenças e infecções, o que pode agravar ainda mais os problemas de produção. Para minimizar os danos e prejuízos econômicos causados por *M. incognita* na cultura da alface, os

produtores frequentemente recorrem ao uso de produtos químicos, conhecidos como nematicidas (Pinheiro, 2017).

Os nematicidas são produtos formulados para controlar e reduzir a população de nematóides no solo. No entanto, o uso de produtos químicos deve ser cuidadoso e estratégico, levando em consideração os impactos ambientais, a segurança dos trabalhadores agrícolas e a resistência dos nematóides. Sendo frequentemente recomendada a utilização do controle biológico como parte de um manejo integrado, utilizando medidas que visam reduzir a população de nematóides no solo e proteger a produção de alface através do uso de microrganismos antagonistas (Soares et al. 2018).

2.3 Controle biológico

O controle biológico é uma técnica alternativa sustentável aos nematicidas químicos, reduzindo os impactos ambientais e os riscos para a saúde humana. No entanto, sua eficácia pode variar com base nas condições locais e na densidade populacional de nematóides de forma que, para uma implementação bem-sucedida se faz necessária uma abordagem integrada que inclui várias estratégias de manejo (Soares et al. 2018).

Nessa técnica, frequentemente faz-se uso de microrganismos antagonistas que têm a capacidade de inibir ou suprimir o crescimento, a reprodução ou a atividade de pragas ou patógenos. No contexto do controle de nematóides na agricultura, microrganismos antagonistas como fungos nematofagos podem desempenhar um papel importante na redução da população de nematoides patogênicos (Zhang, 2015).

2.3.1 Fungos nematofagos

Os fungos nematofagos são organismos inofensivos ao ambiente e a saúde única e que fazem parte do solo do Brasil. Estes se dividem em quatro grupos; (a) os predadores, com destaque para os gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium*. (b) os fungos ovicidas, que destroem ovos de nematoides por meio da ação direta e mecânica das suas hifas, destacando-se o gênero *Pochonia* e (c) fungos produtores de metabólitos tóxicos, que destroem alguns parasitas por meio da sua atividade toxica e (d) os endoparasitos que destroem as larvas por meio da penetração ativa (Braga & Araújo, 2014).

Os fungos predadores de nematoides, produzem armadilhas capazes de capturar e eliminar nematoides(Rodrigues et al., 2018; Silva et al., 2017). Os tipos de armadilhas mais comumente encontradas nestes fungos são aqueles compostos de redes adesivas e anéis constritivos (Yang et al., 2007; Araújo et al., 2014).

Estudos desenvolvidos por Soares e Santos (2006), com formulações de fungos nematófagos em hortaliças, obteve redução da população de *Meloidogyne*. Segundo Pinheiro *et al.*, (2010), fungos predadores se mostraram capazes de manter o nível de dano causado pelo nematoide das galhas abaixo de 20%, demonstrando potencial para serem utilizados como alternativa promissora ao controle químico. Outros estudos relataram a eficácia desses fungos no controle de nematoides, segundo Wille *et al.* (2019), extrato aquoso de *Arthrobotrys* alcançou 70% de mortalidade em juvenis de *Panagrellus redivivus* após o período de 24 horas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Isolamento de fungos nematófagos

Amostras de solo coletadas em áreas agricultáveis e nativas do Cerrado baiano, localizadas nas proximidades da Universidade do Estado da Bahia em Barreiras, foram utilizadas para o isolamento dos fungos predadores de nematoides. O processo de coleta foi realizado na rizosfera das plantas, e as amostras obtidas foram transportadas em caixas isotérmicas e encaminhadas ao laboratório de Fitopatologia do Campus IX.

Utilizou-se para o isolamento dos fungos uma adaptação do método do espalhamento de solo descrito por Barron (1977) e modificado por Santos (1992), adicionando em placas de Petri, que continham meio ágar-água 2% uma suspensão contendo amostras de solo previamente homogeneizada. E posteriormente adicionando 4 discos de ágar nutriente contendo nematoides de vida livre para estimular a formação de estruturas de captura pelos fungos nematófagos (figura 2).



Figura 2. A - método do espalhamento de solo descrito por Barron (1977) e modificado por Santos (1991); B - desenvolvimento fungico e a presença de nematoide capturado.

As placas foram então fechadas e mantidas em câmara de incubação (BOD) a uma temperatura de 25°C durante 15 dias. Durante esse período foi observado, com auxílio de um microscópio de objetiva invertida, o desenvolvimento fúngico e a presença de nematoide capturado ou predado pelo fungo (figura 2).

Para obtenção de cultura pura dos fungos para sua identificação, estruturas dos fungos, que apareceram sobre os nematoides, foram transferidas, ara placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (Batata-Ágar-Dextrose), em ambiente estéril no interior da câmara de fluxo laminar. Após a transferência, as placas foram mantidas em BOD regulada para 25°C de temperatura onde permaneceram por cerca de 10 dias até o desenvolvimento e frutificação dos fungos para a identificação a nível de gênero.

3.2 Multiplicação do nematoide *M. incognita*

O nematoide *M. incognita* foi obtido de raízes de tomateiro cedidos pelo Núcleo de Pesquisa em Nematologia – NUPEN, e multiplicados em tomateiros ‘Santa Cruz Kada’ e algodoeiros na casa de vegetação da Universidade do Estado da Bahia/UNEB no Campus IX.

Para extração dos ovos do nematoide, as raízes de tomateiros com galhas foram processadas seguindo a metodologia de Hussey e Baker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981). As raízes foram trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos.



Figura 3. A- raízes trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos, B- suspensão de ovos, retida na peneira de 400 mesh.

Após essa operação, a suspensão de raízes trituradas foi vertida sobre um conjunto de peneiras granulométricas das malhas de 200 sobre 400 mesh (figura 3). A suspensão de ovos, retida na peneira de 400 mesh, foi recolhida em um Becker com auxílio de jato de água, e os ovos obtidos foram quantificados em lâmina de Peters, sob microscópio óptico (figura 3).

Após sua quantificação, os ovos de *Meloidogyne* foram utilizados para a infestação de mudas de tomateiros, para a qual utilizou-se uma pipeta automática de 1000 microlitros, e com auxílio de um bastão de vidro foram abertos dois pequenos buracos no substrato das mudas de tomateiro, próximo as raízes, adicionando 1ml da suspensão, contendo em média 3000 mil ovos.

3.3 Obtenção dos filtrados de fungos predadores de nematoides

Para obtenção dos filtrados fúngicos, no interior da câmara de fluxo laminar, foram colocados em frascos do tipo Erlenmeyer contendo meio de cultura líquido BD (caldo de batata + dextrose) cerca de 10 discos colonizados pelo fungo obtidos conforme descrito anteriormente. Em seguida os frascos foram tamponados e colocados em um agitador orbital (Shaker) a temperatura de 25°C por um período de duas semanas. Após esse período foram obtidos os filtrados vertendo o meio líquido com o crescimento fúngico em um béquer contendo uma gaze, obtendo-se dessa forma o filtrado fúngico utilizado na montagem dos tratamentos 3 e 4, onde foram combinados fungo 1 (catolandia) e fungo 2 (JCO).

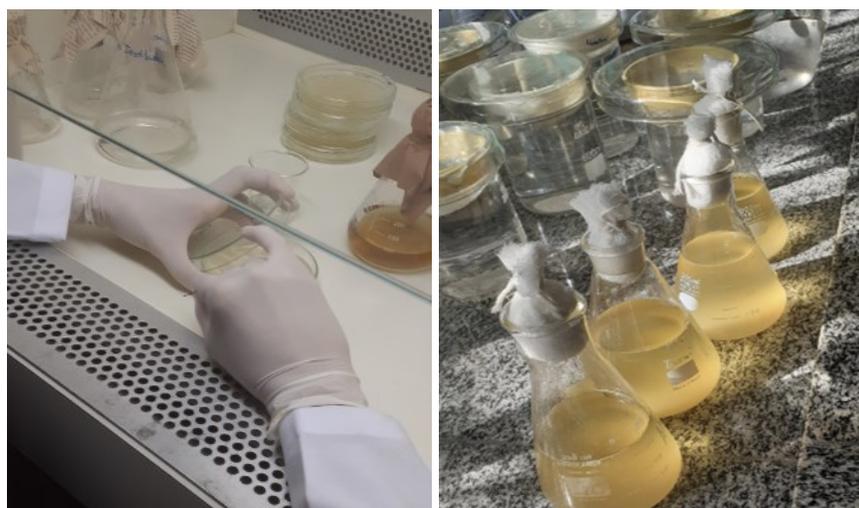


Figura 4. A - obtenção de discos pré colonizados com os fungos 1 e 2; B- frascos do tipo Erlenmeyer contendo meio de cultura líquido BD (caldo de batata + dextrose)

3.4 Montagem do experimento

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, pertencente à Universidade do Estado da Bahia - UNEB, Campus IX, sediado no município de Barreiras. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 10 repetições utilizando de aplicações isoladas e combinadas.

A cultura pura de dois fungos predadores de nematoides, isolados conforme descrito na tabela 1, foi multiplicada em placas de Petri contendo meio CMA e incubada a 25°C em câmara de crescimento tipo BOD, por 10 dias. Após esse período, no interior de uma câmara de fluxo

laminar, as placas foram abertas e, com o auxílio de um furador de rolha, foram obtidos 150 discos pré-colonizados com os fungos. Em seguida, os discos foram colocados no interior de um saco plástico contendo cerca de 1000g do substrato comercial tipo vermiculita, e mantidos por 7 dias em temperatura ambiente.

Tabela 1- Descrição dos tratamentos implementados em casa de vegetação

Tratamento 1	Pré infestação do substrato de formação de mudas com isolado fúngico de Catolândia + ovos de <i>M. incognita</i>
Tratamento 2	Pré infestação do substrato de formação de mudas com isolado fúngico da JCO + ovos de <i>M. incognita</i>
Tratamento 3	Pré infestação do substrato com isolado fúngico (Catolândia) + ovos de <i>M. incognita</i> + isolado fúngico JCO (Filtrado)
Tratamento 4	Pré infestação do substrato com o isolado fúngico (JCO) + ovos de <i>M. incognita</i> + isolado fúngico Catolândia (Filtrado)
Tratamento 5	Testemunha absoluta
Tratamento 6	Testemunha inoculada (alface + ovos de <i>M. incognita</i>)

Após esse período, o substrato infestado com os fungos predadores de nematoides foi colocado em bandejas de mudas do tipo tubetes, e a semeadura da alface foi realizada, colocando 7 sementes por tubete e realizando o desbaste. Quinze dias após a semeadura da alface, foi realizado o transplante para sacos plásticos contendo substrato esterilizado, compostos por uma mistura de solo, esterco bovino e areia na proporção de (2:1:1).

Quinze dias depois do transplante, foi realizada a infestação dos substratos com 3000 ovos de *M. incognita*, extraídos conforme a metodologia descrita no item 3.2, sendo feitos dois furos ao lado de cada muda e realizada a aplicação dos ovos com auxílio de uma pipeta automática. Para montagem dos tratamentos com a combinação dos isolados fúngicos (Tabela 1) foi realizada a aplicação de cerca de 30 ml de filtrado obtido como descrito no item 3.3, obedecendo um intervalo de quinze dias após a infestação do substrato com nematoides.

3.5 Avaliação do experimento

A seguir, depois de um período de cinquenta dias da semeadura da alface onde foram mantidos turnos de rega diários, cada planta foi meticulosamente removida dos sacos de cultivo, com o objetivo de realizar uma avaliação quantitativa das galhas presentes, bem como da massa das raízes cultivadas e dos ovos existentes no sistema radicular das plantas, a parte aérea das plantas medida com auxílio de régua graduada. A contagem das galhas foi realizada

empregando-se uma lupa e um contador manual como instrumentos auxiliares.

3.6 Análise de dados

Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise pelo software estatístico Assistat 7.7.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois isolados de fungos predadores de nematoides (Catolândia e JCO), aplicados de forma combinada ou isoladamente (tratamentos 1, 2, 3 e 4), reduziram de forma significativa o número de galhas e ovos de *M. incognita* no sistema radicular da alface quando comparado com a testemunha (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de dois isolados de fungos predadores de nematoides, obtidos do cerrado baiano sobre a altura da parte aérea, galhas e ovos por grama de raiz na cultura da alface inoculada com *M. incognita*

	Tratamentos	Altura da parte aérea (cm)	Ovos/g de raiz	Galhas/g de raiz
1	Isolado fúngico (Catolândia)	27,20 a	1340,00 b	32,00 b
2	Isolado fúngico (JCO)	25,20 b	984,00 c	19,00 c
3	Isolados Catolândia + JCO (Filtrado)	27,60 a	700,00 d	13,80 d
4	Isolados JCO + Catolândia (filtrado)	25,40 b	910,00 c	18,40 c
5	Testemunha absoluta	20,00 c	-	-
6	Testemunha inoculada	10,60 d	2100,00 a	64,40 a
	CV %	3,01	6,92	9,14

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste tukey ao nível 5% de probabilidade.

Quando aplicados de forma isolada, o fungo da JCO mostrou potencial superior ao fungo da Catolândia em reduzir o número de galhas e ovos no sistema radicular da alface (Tabela 2). Corroborando aos resultados obtidos, esses mesmos isolados fúngicos, também mostraram eficiência em reduzir o parasitismo do nematoide das galhas na cultura do tomateiro (Santos e Coimbra, 2022).

A rápida colonização da rizosfera da alfaca, proporcionada pela aplicação do fungo no substrato de formação de mudas, seguida da semeadura da alfaca pode ter possibilitado a formação de estruturas de captura possibilitando o controle do nematoide das galhas. Trabalhos já mostraram a importância dessa pré colonização para que ocorra o controle biológico mediado por fungos predadores, segundo Lopes et al (2007), apesar do sofisticado mecanismo de predação dos fungos predadores de nematoides, esses fungos dependem de uma rápida colonização do solo para que sejam eficientes no controle biológico.

A infestação do substrato de formação de mudas de alfaca com o isolado fúngico Catolândia combinado ao isolado fúngico JCO filtrado (tratamento 3), permitiu a maior redução no número de galhas e ovos de *M. incognita* quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 2).

Entretanto, a combinação do fungo JCO usando infestação do substrato com o isolado Catolândia aplicado na forma de filtrado não teve o mesmo grau de controle, não se diferenciando estatisticamente da aplicação do isolado fúngico JCO (Tabela 2). A presença de metabólitos com uma possível ação nematicida no isolado fúngico da JCO, pode ter possibilitado uma maior redução significativa do nematoide na alfaca. Vários trabalhos de pesquisa já mostraram o efeito nematicida de filtrados fúngicos sobre os nematoides das galhas (Costa et al. 2001; Soares et al., 2012, Souza, 2018). A liberação de proteases produzidas por fungos predadores de nematoides já foi comprovada ter ação nematicida (Tavela, 2013).

Quanto ao desenvolvimento da alfaca, ambos os isolados fúngicos, combinados ou não, aumentaram significativamente a altura da parte aérea da alfaca quando comparado com a testemunha absoluta e inoculada (Tabela 2). O isolado de Catolândia aplicado isoladamente no substrato com ou sem aplicação de filtrado com fungo da JCO permitiu o maior crescimento da alfaca (Tabela 2). Soares et al (2005) observaram um ganho de peso na parte aérea da alfaca de mais de 400% comparado com a testemunha ao aplicar fungos predadores de nematoides do gênero *Arthrobotrys* no solo.

O uso de isolados de fungos predadores de nematoides, obtidos do cerrado baiano, mostrou potencial para o emprego no controle do nematoide na alfaca e aumento do crescimento vegetativo da planta; no entanto, estudos devem ser realizados para se conhecer a capacidade de controle do nematóide das galhas em condições de campo.

5 CONCLUSÃO

- Os fungos predadores de nematoides obtidos no Cerrado baiano mostraram potencial em reduzir o parasitismo do nematoide das galhas na cultura da alface e aumentar o crescimento vegetativo da planta, podendo ser usados isoladamente ou em combinação.

- O isolado fúngico Catolândia combinado ao isolado fúngico JCO filtrado (tratamento 3), permitiu a maior redução no número de galhas e ovos de *M. incognita* quando comparado com a testemunha.

- Mais estudos devem ser realizados para se conhecer a capacidade de controle desses fungos predadores de nematoide em condições de campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, J.V. et al. **Efeito antagônico de fungos predadores dos gêneros *Monacrosporium*, *Arthrobotrys* e *Duddingtonia* sobre larvas infectantes.** Arquivo Brasileiro de Zootecnia, v. 1, p. 168–176, 2021.
- BARRON, G. L. **The nematode-destroying fungi.** Guelph, Ontario, Canadá, Canadian Biological Publications, 1977. 140 p.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. **Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos.** In: MICHEREFF, BARROS, R. (Ed). *Proteção de plantas na agricultura sustentável.* Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001.
- BRAGA, F.R, ARAÚJO, J.V. , **Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. Applied microbiology and biotechnology.** 98:1, 71-82. 2014.
- COSTA, M. J., CAMPOS, V. P., PFENNING, L. H., & OLIVEIRA, D. F. (2001). **Toxicidade de filtrados fúngicos a *Meloidogyne incognita*.** Fitopatologia Brasileira, 26, 749-755.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. **Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.)** Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.9, 2019.
- GOMES, R.S.S.; DEMARTELAERE, A.C.F.; NASCIMENTO, L.C.; MACIEL, W.O.; **Bioatividade de indutores de resistência no manejo da goiabeira.** *Summa Phytopathologica* 42: 149-154. 2016.
- HUSSEY RS; BARKER KR. **A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique.** Plant Disease Reporter 57, p.1025-1028,1973.
- Lopes, E. A., Ferraz, S., Ferreira, P. A., Freitas, L. G., Dhingra, O. D., Gardiano, C. G., & Carvalho, S. L. (2007). **Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*.** *Nematologia Brasileira*, v. 31, n. 2, p. 78-84, 2007.
- MIAMOTO, A; SILVA, MTR; DIAS-ARIEIRA, CR; PUERARI, HH. **Alternative products for *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne incognita* management in soya bean plants.** *Journal of Phytopathology* 165: 635-640, 2017.
- PIMENTA, C.A.M.; CARNEIRO, R.M.D.G. **Controle de *Meloidogyne javanica* por *Pasteuria penetrans* na cultura da alface: primeiro ensaio.** *Nematologia Brasileira*, Brasília, v.26, n.1, p. 67-75, dez. 2002.
- PINHEIRO, J.B. **Nematoides em hortaliças** 1. ed. Brasília-DF: Embrapa. 194p, 2017.
- SANTOS, M. A.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. J. **Evaluation of 20 species of fungi from**

- Brazil for biocontrol of *Meloidogyne incognita* race 3.** Nematropica, Auburn, v. 22, p. 183-192, 1992.
- REIS L. L. **Tecnologias no cultivo de alface.** Ifsuldeminas, 2023.
- SANTOS, R. R. ; COIMBRA, J. L. . **Potencial de fungos nematófagos do cerrado no controle do nematoide das galhas no tomateiro.** In: VII Semana Científica da Universidade do Estado da Bahia, DCH-Campus IX, 2022, Barreiras-BA. Anais da VII Semana Científica-UNEB-Campus IX-Barreiras, 2022. p. 22-22.
- SOARES, P. L. M. et al. **Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba, Resumos... Piracicaba: SBN, 2005a. p. 67.
- SOARES, M.R.M.; LOPES, A.P.M.. **Supressão da penetração de *Meloidogyne javanica* em tomateiro por produtos alternativos.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 35. *Anais.*. Bento Gonçalves, SBN, s/n. 2018.
- SOARES, B.O.; MATTEDI, A.P.; ALMEIDA, V.S.; GRIGOLLI, J.F.J.; **Tomate: tecnologia de produção.** Viçosa: UFV, 2017.
- GOUVEIA, A. **Análise de extratos fúngicos relacionados ao controle biológico de fitonematoides e à promoção de crescimento vegetal.** 2018. 89 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2018.
- SOARES, F.E.F.; BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; LIMA, W.S.; MOZER, L.R.; QUEIROZ, J.H. **In vitro activity of a serine protease from *Monacrosporium thaumasium* fungus against first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*.** Parasitology Research, v. 110, p. 2423-2427, 2012.
- TAVELA, A. de O.; DE ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; DA SILVEIRA, W. F.; DORNELAS E SILVA, V. H.; CARRETTA JÚNIOR, M.; BORGES, L. A.; ARAUJO, J. M.; BENJAMIN, L. dos A.; CARVALHO, G. R.; DE PAULA, A. T. **Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses.** Research in Veterinary Science, v. 94, p. 568-572, 2013.
- YANG J, TIAN B, LIANG L, ZHANG KQ. **Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi.** Applied microbiology and biotechnology, 75(1), 21-31. 2007.
- ZHANG, S; GAN, U; XU, B. **Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*** Applied Soil Ecology 94: 21-29. 2015.

