



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA - UNEB

Departamento de Ciências Humanas - Campus IX

**CONTROLE DO NEMATOIDE DAS GALHAS E PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO DA RÚCULA COM FUNGOS PREDADORES DE
NEMATOIDES OBTIDOS DO CERRADO BAIANO**

IGOR PEREIRA TRINDADE

Barreiras – BA

2023

IGOR PEREIRA TRINDADE

**CONTROLE DO NEMATOIDE DAS GALHAS E PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO DA RÚCULA COM FUNGOS PREDADORES DE
NEMATOIDES OBTIDOS DO CERRADO BAIANO**

Monografia apresentada como requisito
parcial para a obtenção do título de Bacharel
em Ciências Agrônômicas – UNEB –
Universidade do Estado da Bahia.
Orientador: Prof. Dr. João Luiz Coimbra.

BARREIRAS-BA

2023

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA

Departamento de Ciências Humanas - Campus IX

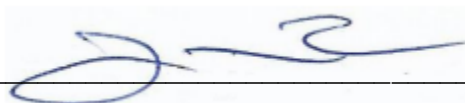
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**CONTROLE DO NEMATOIDE DAS GALHAS E PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO DA RÚCULA COM FUNGOS PREDADORES DE
NEMATOIDES OBTIDOS DO CERRADO BAIANO**

AUTORA: IGOR PEREIRA TRINDADE

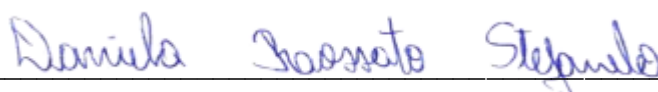
ORIENTADOR: Dr. JOÃO LUIZ COIMBRA

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

Bacharel em Engenharia Agrônômica 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: 27/12/23

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que tornou possível a minha jornada acadêmica desde o início, até o momento atual e me proporcionou viver momentos importantes de conhecimento e aprendizagem. Ofereço esse presente trabalho em memória de minha Mãe, Cleide Ferreira Pereira Trindade, que mesmo tendo falecido antes da minha inscrição na universidade, foi quem me apoiou no vestibular e graças a ela tive forças para chegar até o fim e hoje poder dizer que consegui. Agradeço também pela família, meu pai Jecivaldo de Souza Trindade, irmãos Fábio Pereira Trindade, Hugo Pereira Trindade e Kauana Pereira Trindade. Obrigado por todo o apoio oferecido nos últimos anos, espero poder retribuir tudo que fizeram por mim, amo muito vocês. Agradeço ainda a meus tios Ney e Janete Ferreira, que sempre me ajudaram quando eu precisei, agindo como verdadeiros pais, nunca serei capaz de demonstrar o quanto sou grato e isso nunca será esquecido, obrigado também aos primos Ney e Jean Ferreira. Agradeço a todos os amigos que conheci na universidade, que se fizeram presentes e me apoiaram durante todos esses anos, em especial aos pertencentes do grupo PH (André Ivo, Emanuel do Espírito Santo, Paulo Roberto, Pablo Eduardo, Thiago Lacerda e Thales Roberto e Ronierix Ribeiro). Assim como meus colegas Ingrid Laís, Vitória, Acassio, Gabriel e Thaís e Raquel Maia. Ao meu orientador Dr João Luiz Coimbra e amigas Rafaela e Flavia pela orientação e paciência, assim como todo o quadro de professores do curso de engenharia agrônoma, obrigado por tudo. A Universidade do Estado da Bahia – UNEB pela oportunidade de realizar o curso e fornecer a estrutura para tal. Por fim, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente para minha formação

RESUMO

O trabalho teve como objetivo de avaliar o controle biológico do nematoide de galhas e a promoção de crescimento na rúcula com dois isolados de fungos predadores de nematoides do gênero *Arthrobotrys* spp. O experimento foi montado em delineamento experimental tipo inteiramente casualizado (DIC) com 3 tratamentos e 12 repetições. Dois isolados de fungos predadores de nematoides do gênero *Arthrobotrys* spp., isolados do solo do cerrado baiano nos municípios de Barreiras e Catolândia e mantidos no laboratório de Fitopatologia da UNEB no Campus IX, foram multiplicados durante 30 dias no meio de cultura BDA a 25°C. Após esse período, as placas contendo as colônias fúngicas foram abertas e com auxílio de um furador de rolha foram obtidos 30 discos pré colonizados com o fungo sendo usados para fazer a infestação de 600g do substrato comercial tipo vermiculita. Após a infestação do substrato com o fungo, o mesmo foi colocado em bandejas tipo tubetes e feita a semeadura da rúcula colocando uma semente por tubete. Trinta dias após a semeadura da rúcula, foi realizado o transplântio das mudas para sacos plásticos contendo substratos esterilizados composto por uma mistura de solo, esterco bovino e areia na proporção de (2:1:1). Cinco dias após o transplântio da rúcula, foi realizada a infestação do substrato com 3000 ovos de *M. incognita*, sendo feito dois furos ao lado de cada muda e inoculado os ovos. Cinquenta dias após a semeadura da rúcula, cada planta foi retirada cuidadosamente dos sacos para avaliação do peso fresco e seco da parte aérea, peso das raízes e número de galhas no sistema radicular da planta. Os dois isolados de fungos predadores de nematoide foram eficientes em proporcionar aumento do crescimento vegetativo da rúcula, no entanto, não foi possível avaliar a redução do parasitismo do nematoide das galhas, pois as plantas de rúcula testadas se mostraram resistentes ou apenas não houve a presença de galhas.

Palavras-chave: *Arthrobotrys*, crescimento, *Meloidogyne*, rúcula

ABSTRACT

The aim of the work was to evaluate the biological control of root-knot nematodes and the promotion of growth in arugula with two isolates of nematode-predating fungi of the genus *Arthrobotrys* spp.. The experiment was set up in a completely randomized experimental design (DIC) with 3 treatments. Two isolates of nematode-predatory fungi of the genus *Arthrobotrys* spp., isolated from the soil of the Bahian cerrado in the municipalities of Barreiras and Catolândia and maintained in the UNEB Phytopathology laboratory on Campus IX, were multiplied for 30 days in PDA culture medium at 25° W. After this period, the plates containing the fungal colonies were opened and with the aid of a cork punch, 30 discs pre-colonized with the fungus were obtained and used to infest 600g of commercial vermiculite substrate. After infesting the substrate with the fungus, it was placed in tube-type trays and the arugula was sown, placing one seed per tube. Thirty days after sowing the arugula, the seedlings were transplanted into plastic bags containing sterilized substrates composed of a mixture of soil, cattle manure and sand in a ratio of (2:1:1). Five days after transplanting the arugula, the substrate was infested with 3000 *M. incognita* eggs, two holes were made next to each seedling and the eggs were inoculated. Fifty days after sowing the arugula, each plant was carefully removed from the bags to evaluate the fresh and dry weight of the area, weight of the roots and number of galls on the plant's root system. The two isolates of nematode predator fungi were efficient in increasing the vegetative growth of arugula, however, it was not possible to evaluate the reduction in root-knot nematode parasitism, as the arugula plants tested proved resistant to the nematode.

Keywords: *Arthrobotrys*, growth, Meloidogyne, arugula

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	08
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	09
	2.1 A cultura da rúcula.....	09
	2.2 O gênero <i>Meloidogyne</i> spp	09
	2.3 Controle biológico do nematoide das galhas.....	12
	3.4 Promoção de crescimento de plantas mediado por microrganismos antagonistas.....	14
3	METODOLOGIA.....	16
	3.1 Localização e caracterização da área de estudo.....	16
	3.2 Multiplicação do nematoide <i>M. Incógnita</i>	16
	3.3 Montagem do experimento.....	16
	3.4 Análise estatística	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5	CONCLUSÃO.....	18
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1. INTRODUÇÃO

A rúcula (*Eruca sativa* Mill) é uma hortaliça de ciclo curto e altamente suscetível ao nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.). Esses nematoides induzem a formação de galhas no sistema radicular das plantas, comprometendo a absorção de nutrientes e, por consequência, afetando qualidades na produtividade e na qualidade dos produtos hortícolas. Isso resulta em danos significativos e uma redução substancial na rentabilidade dos horticultores (NAZARENO et al., 2010).

Entre as diversas estratégias de manejo do nematoide das galhas, o controle biológico com fungos nematófagos tem se destacado, especialmente os parasitas de ovos dos gêneros *Purpureocillium* e *Pochonia*, devido à sua eficiência no controle de nematoides (AGRIOS, 2005, SCHIMITT; BELLÉ, 2016) No entanto, um grupo de fungos nematófagos, conhecido como predadores de nematoides, que possuem à sua habilidade de formar estruturas de captura no solo, tem mostrado eficiência no controle do nematoide das galhas (MANZANILLA-LÓPEZ et al., 2013).

Além do controle biológico, os fungos predadores de nematoides, também podem estimular o desenvolvimento vegetativo das plantas, como observado na cultura do arroz e diversos são os mecanismos de promoção de crescimento proporcionado por microrganismos do solo como a mineralização de matéria orgânica, aumento da absorção de fósforo, produção de substâncias reguladoras de crescimento (BADR et al., 2006, FERRAZ; FREITAS, 2004).

Devido à ausência de trabalhos de controle biológico do nematoide das galhas na rúcula, com fungos predadores de nematoides e considerando o potencial destes microrganismos em promover o crescimento vegetativo das plantas, como promotores de crescimento ~~to, to de plantas~~ Consi ~~derando e a ausência de pesquisas visando avaliar a capacidade dos fungos predadores de nematoides em estimular o desenvolvimento da rúcula,~~ este trabalho teve como es se ~~objetivo trabalho teve como objetivo~~ avaliar o controle ~~biológico~~ do nematoide *Meloidogyne incognitadas galhas* e a promoção de crescimento ~~da~~ rúcula com dois isolados de fungos predadores de nematoides do gênero *Arthrobotrys* spp. ~~is~~ Isolados dos solos do cerrado baiano.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura da rúcula

A rúcula (*Eruca sativa*) pertence à família das *Brassicáceas*, apresenta folhas alongadas e pode medir entre 10 a 30 centímetros de altura, dependendo da variedade e das condições de cultivo.

Quando cultivada durante os meses frios, a mesma possui um sabor mais picante, já quando o cultivo é realizado em épocas mais quentes, a rúcula tem um sabor forte e amargo (FILGUEIRA, 2008).

Para o bom desenvolvimento e produção de folhas grandes e tenras, a mesma necessita de temperaturas entre 15 e 18°C (TRANI; FORNASIER). Nas condições climáticas do Rio grande do Sul, a rúcula apresenta ciclo curto, com a colheita prevista para 30 a 40 dias após a semeadura, apresentando crescimento lento nas primeiras semanas e maior taxa de crescimento entre 25 e 30 dias (GRANGEIRO et al., 2011).

A rúcula adapta-se bem ao cultivo em canteiros, sendo uma opção de renda para pequenos produtores, justamente pela crescente demanda por hortaliças de alta qualidade ao longo do ano surgindo a necessidade de se realizar pesquisas para desenvolver sistemas de cultivo que permitem a manutenção desta oferta ao longo dos meses em diferentes regiões e condições adversas de cultivo (CARRIJO et al., 2004).

Para tanto o cultivo em ambientes com algum tipo de proteção, tem apresentado uma série de vantagens no desenvolvimento das plantas, como aumento de produtividade; melhoria qualidade dos produtos; conferindo maior competitividade pela possibilidade de oferecer produtos de qualidade o ano todo (MARTINS, 2000).

A utilização de telas de sombreamento nos cultivos em locais de temperatura e luminosidade elevadas conduz as hortaliças de folhas dentro de uma variação ótima de luminosidade, reduzindo a intensidade da energia radiante com melhor ajuste na sua distribuição. Esses benefícios podem acarretar em fatores favoráveis à necessidade da planta, principalmente no aumento da fotorrespiração, o que contribui para melhor desempenho da cultura em comparação com o cultivo a céu aberto (SILVA, 2000; ROCHA, 2007).

2.2 O gênero *Meloidogyne* spp.

Meloidogyne é derivado do grego e significa fêmea em forma de maçã. Relatado pela primeira vez por Berkeley em 1855, quando observou nódulos radiculares em pepinos (MOENS et al., 2009). Atualmente, são conhecidas mais de 100 espécies de nematoides das galhas (HUNT; HADDOO, 2009).

Os nematoides desse gênero são altamente polípagos e podem ser encontrados em diversas culturas por serem biologicamente muito competitivos. Durante sua evolução, eles foram capazes de desenvolver estratégias parasitárias como galhas, uma resposta fisiológica da planta hospedeira na qual as células dos órgãos da planta são induzidas a se transformar em tecidos vegetativos diferenciados que fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimento e reprodução. Estas células atacadas alteram morfológicamente (hipertrofias) e fisiologicamente, em que o citoplasma fica denso, granuloso e associado a sucessivas divisões nucleares, não acompanhada da divisão celular, conhecidas como células gigantes ou nutridoras. Nestas células modificadas (sítio de alimentação) o nematoide passa a ingerir o conteúdo citoplasmático (MOURA, 1997).

O parasitismo desses nematoides afeta diretamente o desenvolvimento das plantas, levando a sua deformação, com raízes subdesenvolvidas e absorção reduzida de água e de 11 tipos de nutrientes, resultando em crescimento atrofiado das partes aéreas, clorose geral, diminuição da produtividade, podendo até causar doenças nas plantas e sua morte.

O ciclo da infecção por *Meloidogyne* começa com a eclosão dos ovos e migram pelo solo em direção às raízes das plantas hospedeiras, onde passam pela região do meristema. Essas migram para a zona de diferenciação da célula vegetal. Por meio de sondas, onde se deposita diversos produtos da saliva nas células vegetais para induzi-las a formar células gigantes, das quais extrairá os nutrientes de que precisam para se desenvolver. Uma vez que seus locais de alimentação são estabelecidos, o parasita torna-se sedentário e passa por mais três mudas até a idade adulta (HUNT; HADDOO, 2009).

Os nematoides de terceiro e quarto estágio, J3 e J4 respectivamente, não possuem estilete, portanto não se alimentam. Os estiletos reaparecem na fase adulta. Os machos não se alimentam, já as fêmeas sim. Tornando-se esferoidais, produzem massas de ovos envoltos por matrizes gelatinosas que são secretadas pelas glândulas retais (MANZANILLA-LÓPEZ; EVANS; BRIDGE, 2004).

Ao se tratar do ciclo de vida de *M. incognita*, percebe-se que o mesmo é relativamente curto, em média 28 dias e temperatura oscilando de 28 a 30 °C. O processo de alimentação em plantas parasitadas se dá através de ingestões de secreções, produzidas

por glândulas esofagianas. Que se estabelece na infecção, liberando enzimas necessárias para formação de células gigantes, chamadas galhas radiculares, que causam perdas severas na planta hospedeira, no qual permanecem nesse local até completar seu ciclo de vida (MEDINA, I.L et al., 2016).

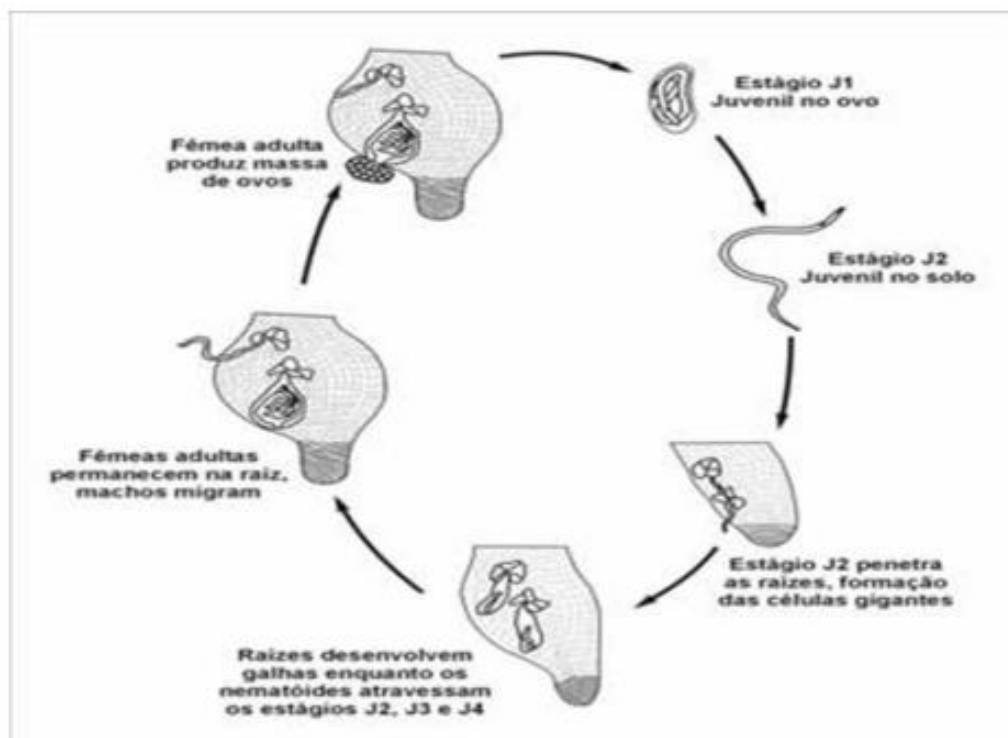
Essa singularidade resulta da vantagem evolutiva desse nematoide em manter relação íntima com a planta infectada. Para estabelecerem o parasitismo, provocam alterações fisiológicas, morfológicas e moleculares atendendo suas necessidades de desenvolvimento e reprodução (MEDINA, I.L et al., 2016). Com a influência de sua duração ou redução dada através dos fatores como umidade, temperatura, susceptibilidade da planta parasitada, entre outros.

Nesse cenário, plantas contaminadas por este fitopatógeno tornam-se mais sensíveis a alteração de fatores ambientais, como o calor, o frio, a seca e aos ataques de pragas e outros patógenos (FERRAZ, 2001). Já *M. incognita* consegue completar de quatro a cinco gerações e atingir níveis populacionais elevados, comprometendo culturas anuais, como feijão, soja, algodão, tomateiro, dentre outras culturas de diferentes ciclos. Em condições adversas como temperaturas muito baixas, ausência de hospedeiros, dessecação do solo e etc., podem provocar prolongamento do ciclo, quando não induzir estratégias de sobrevivência, comumente não ocorre no Brasil. (FERRAZ, 2001).

Os sintomas mais comuns de contaminação apresentados são plantas com crescimento reduzido, exibindo muitas folhas com clorose conhecidas como “carijó” (FERRAZ, 2001).

A estratégia de controle mais usual atualmente é aplicação de produtos químicos, que em sua maioria possuem elevada toxicidade para o ser humano, animais e meio ambiente. O que prejudica a biodiversidade e saúde dos seres vivos e do ambiente, resultando na busca por métodos alternativos que apresentem eficiência no manejo para diferentes patógenos, sem promover prejuízos ao ambiente e principalmente, aos consumidores.

Figura 1: Ciclo de vida no nematoide de galhas (*Meloidogyne spp.*)



Fonte: Disponível em: [researchgate.net](https://www.researchgate.net).

2.4 Controle biológico do nematoide das galhas

No que se refere ao controle biológico no Brasil, Alcântara e Azevedo (1981) foram os primeiros a registrar informações sobre a cerca da utilização de fungos nematófagos, os mais promissores, tanto pela capacidade saprofítica, quanto pelo fácil desenvolvimento *in vitro*, o que simplifica seu cultivo em quantidades elevadas para formulações à base de estruturas fúngicas com finalidade de produção de produtos comerciais (MACHADO et al., 2016).

Portanto, o destaque desses organismos se dá pela classificação dos mesmos como principais agentes potenciais para uso no controle biológico, seguidos das bactérias.

Geralmente os organismos nematódicos parasitam desde os ovos, juvenis, adultos ou cistos, além de produzem substâncias tóxicas aos nematoides (CARNEIRO et al., 2020).

Pesquisas realizadas por Dallemole Giarretta et al. (2014), registrou que o fungo *Pochonia chlamydosporia* reduziu o número de galhas e de ovos de nematoides da espécie *Meloidogyne javanica*, atingindo uma redução de até 79,64%. Estudos desenvolvidos com a espécie fúngica *Purpureocillium lilacinum* também comprovou sua eficiência no controle de *M. javanica*, apresentando taxas de mortalidade de juvenis de segundo estágio (TAZI et al., 2020).

Para o controle dos nematoides o método biológico fica cada vez mais eminente, apresentando excelente desempenho e não contaminação ambiental, neste sentido, Amaral et al. (2018) apresentou métodos de controle biológicos que constataram que o gênero *Trichoderma* é um dos principais agentes biológicos, agindo por meio de mecanismos parasitários, realizados pelos efeitos de metabólitos secundários que são lançados na rizosfera.

Já Santos et al. (2019), realizaram diversas pesquisas para comprovar o efeito de produtos biológicos no manejo de nematoides, estudando diferentes espécies fúngicas como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces lilacinus*, avaliados para controle da doença na cultura da soja, e todos se procederam de forma protetora retardando ou inviabilizando o parasitismo provocados pelos nematoides sobre o sistema radicular das plantas.

Desse modo, o uso do controle biológico pode ser uma forma preventiva e alternativa, o que tende a ampliar a quantidade e eficácia dos microrganismos. Porém, os estudos do habitat e a forma de predação dos inimigos naturais são de grande importância, para que o controle biológico seja de fato efetivo em sua difusão (VENZON, 2016). Desse modo, o manejo biológico alternativo observa as interações dos ciclos naturais, procurando consolidar a sustentabilidade do meio (OLIVEIRA et al., 2019).

Já do o ponto de vista produtivo, o uso de cultivares resistentes é interessante em áreas infestadas pelo nematoide, embora algumas delas possuam baixa produtividade quando comparadas com as cultivares suscetíveis. Além disso, a resistência ao nematoide geralmente implica em suscetibilidade a outras doenças que podem, dependendo das condições, acarretar perdas inaceitáveis para os agricultores. Além disso, em altas densidades populacionais do nematoide, a reação de resistência das cultivares pode sofrer alterações, já havendo relatos de seleção de nematoides capazes de parasitar cultivares resistentes ao nematoide (ARANTES et al., 2010).

Ademais, controles alternativos no manejo fitossanitário em substituição ao uso convencional devem ser aprovados, após análise e estudos, visando a utilização segura, sustentável e econômica com eficiência comprovada no manejo de pragas e doenças, sem afetar o homem, animais, e o meio ambiente, além da introdução de estratégias que mantenham o dano provocado pelas pragas ou patógenos inferior ao nível de dano econômico.

Atualmente, os fungos nematófagos são os microrganismos mais estudados para utilização no controle de nematóides no meio ambiente. Estes fungos estão catalogados com mais de 150 espécies pertencentes aos gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactyella*, *Trichothecium*, *Duddingtonia*, *Monacrosporium*, *Genicularia* e *Dactylariopsis* (GRAMINHA et al., 2001).

A maioria das espécies está classificada como fungos predadores de nematóides, que produzem estruturas em forma de anéis constritores e não constritores, hifas, botões e redes tridimensionais adesivas ao longo do micélio. O aprisionamento à armadilha é seguido pela penetração das hifas na cutícula do nematóide. Dentro do nematóide, ocorre o crescimento das hifas e a digestão dos conteúdos internos (ARAUJO et al., 2004).

Embora muitos fungos predadores de nematóides tenham sido isolados e identificados durante o final do século XIX, ainda são bastante raras as informações sobre suas características ecológicas, nutricionais e fisiológicas. No solo, onde prevalecem condições nutricionais estressantes para o desenvolvimento dos fungos, a habilidade em predação de nematóides propicia a estes microorganismos vantagens adicionais de sobrevivência. Algumas espécies desenvolvem estruturas de captura como resultado de estímulos externos, enquanto outras as desenvolvem espontaneamente, sendo as mais dependentes de nematóides como fonte de nutrientes (GRAMINHA et al., 2001; MOTA et al., 2003).

2.5 Promoção de crescimento de plantas mediado por microrganismos antagonistas

O controle biológico pode envolver um ou mais mecanismos de ação de microrganismos contra os patógenos, podendo ser por antagonismo direto como antibiose, micro parasitismo, competição ou pela indução de resistência sistêmica nas plantas hospedeiras (SHORESH et al., 2010).

Dentre os mecanismos de antibiose, destacam-se a produção de compostos com atividade antimicrobiana derivados do metabolismo primário, secundário ou polipeptídios de baixo peso molecular, como os antibióticos, as bacteriocinas, os sideróforos e a secreção de enzimas hidrolíticas (BULGARELLI et al., 2013).

Dentre os compostos antimicrobianos para controle biológico disponíveis comercialmente, a maioria contém bactérias do grupo das *Pseudomonas*, *Bacillus* ou fungos do gênero *Trichoderma* (JUNAID et al., 2013). Embora os microrganismos que atuam no controle biológico não promovam o crescimento das plantas diretamente, eles podem influenciar os MPCP que estimulam diretamente o crescimento das plantas, como o 2,4-DAPG produzido por *Pseudomonas fluorescens* que aumenta o efeito fitoestimulatório de *Azospirillum brasilense* e altera a expressão de genes envolvidos na promoção do crescimento das plantas.

Esta via reforça o sistema de defesa de toda a planta e sofre regulação durante a colonização das raízes por microrganismos mutualistas. A razão entre ácido jasmônico e etileno induz a expressão das enzimas quitinases, glucanases que degradam as paredes celulares, principalmente de fungos fitopatógenos, e aumentam a expressão da enzima fenilalanina amônia-liase que promove o acúmulo de lignina nos tecidos próximos ao local da infecção, além de peroxidases que produzem espécies reativas de oxigênio com ação antimicrobiana (HOWE; JANDER, 2008).

Alguns microrganismos podem exercer a indução da resistência em diferentes espécies de plantas, enquanto outros apresentam especificidade para uma determinada planta hospedeira, o que sugere a necessidade de reconhecimento do microrganismo por parte da planta (PIETERSE et al., 2012)

Para Harman e outros (2004), a interferência de *Trichoderma spp.* No crescimento de plantas e no aumento de produtividade, ocorre devido a sua capacidade em colonizar as raízes. Segundo Harman (2000), *T. harzianum* foi encontrado colonizando toda a extensão das raízes de plantas de framboesa, em solos com diferentes teores de matéria orgânica. Silvan e Harman (1989) observaram que sementes de milho e algodão, quando tratadas com isolados de *T. harzianum*, apresentaram incremento das raízes em 31% e 60%, respectivamente, quando comparadas com a testemunha.

A promoção do crescimento determinada através do peso de massa seca superior à testemunha foi observada por Chang e outros (1986), em feijoeiro (10%), rabanete (8%), tomateiro (37%), pimenteira (42%) e pepineiro (93%), quando se fez o tratamento de solo com suspensão de conídios de *T. harsianum*. Também foram encontrados resultados

positivos por Inbar e outros (1994), em tratamento de solo com isolado de *T. harzianum*, nos quais o pepineiro e pimenteira tiveram aumento significativo quanto à altura das plantas em 24% e 17%, e peso de massa seca em 25% e 29%, respectivamente. Resende e outros (2004), verificaram maior acúmulo de matéria seca nas raízes de milho provenientes de sementes inoculadas também com *T. harzianum*. O isolado T-22 de *T. harzianum* promoveu o crescimento em plantas, por meio da sua habilidade em solubilizar muitos nutrientes importantes para a mesma (ALTOMARE e outros, 1999). O isolado T-22 de *T. harzianum* foi efetivo na indução de formação de raízes em tomateiro, promoveu o incremento no comprimento de raízes de soja e milho e o aumento da produtividade de pimentão, tanto quanto um hormônio comercial (HARMAN, 2000).

Altomare e outros (1999), verificaram que a capacidade de um isolado de *T. harzianum* em promover o crescimento de plantas está na sua habilidade em solubilizar nutrientes para a planta. Ethur (2006), cita que no solo os macro e micronutrientes sofrem um equilíbrio dinâmico complexo de solubilização e insolubilização, que é fortemente influenciado pelo pH e pela microflora, os quais afetam a acessibilidade dos nutrientes às plantas.

3 Material e Métodos

Localização e caracterização da área de estudo

O experimento foi conduzido na Universidade do Estado da Bahia (UNEB) campus IX, em casa de vegetação e no laboratório de Fitopatologia pertencentes ao Campus IX da Universidade do Estado da Bahia-UNEB, localizada no município de Barreiras- BA, situada à 12° 8' 54'' Sul e 44° 59' 33'' Oeste.

Multiplicação do nematoide *M. incognita*.

O nematoide *M. incognita* foi obtido de raízes de tomateiro adquiridos através do instituto JCO Bioprodutos. A extração dos ovos das raízes repletas foi processada pela metodologia de Hussey e Baker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981). Para essa obtenção as raízes foram trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 segundos. A mistura de raízes trituradas então foi vertida sobre um conjunto de peneiras granulométricas das malhas de 200 sobre 500 mesh. A suspensão de ovos, retida na peneira de 500 mesh, foi recolhida em um Becker com auxílio de água aplicada com uma pisseta, e os ovos obtidos quantificados em lâmina de Peters, sob microscópio óptico.

Montagem do experimento

O experimento foi montado em delineamento experimental tipo inteiramente casualizado (DIC) com 3 tratamentos (dois isolados fúngicos e a testemunha inoculada) e 12 repetições, totalizando 36 parcelas experimentais.

Dois isolados de fungos predadores de nematoides do gênero *Arthrobotrys spp.*, isolados do solo do cerrado baiano nos municípios de Barreiras e Catolândia e mantidos no laboratório de Fitopatologia da UNEB no Campus IX, foram multiplicados durante 30 dias no meio de cultura BDA a 25°C. Após esse período, as placas contendo as colônias fúngicas foram abertas e com auxílio de um furador de rolha foram obtidos 30 discos pré colonizados que foram usados para fazer a infestação de 600g do substrato comercial tipo vermiculita. Após a infestação do substrato com o fungo, o mesmo foi colocado em bandejas tipo tubetes e feita a semeadura da rúcula colocando uma semente por tubete. Trinta dias após a semeadura da rúcula foi realizado o transplante das mudas de rúcula para sacos plásticos contendo substratos esterilizados composto por uma mistura de solo, esterco bovino e areia na proporção de (2:1:1).

Cinco dias após o transplante da rúcula foi realizada a infestação do substrato com 3000 ovos de *M. incognita*, sendo feito dois furos ao lado de cada muda e inoculado os ovos. Cinquenta dias após a semeadura da rúcula, cada planta foi retirada cuidadosamente dos sacos para avaliação do número de galhas, peso das raízes com galhas e ovos por sistema radicular da planta. A parte aérea foi pesada em uma balança analítica e em seguida acondicionadas em sacos de papel e submetidas à temperatura de 65° C em estufa de circulação de ar por 72 horas para a determinação da massa seca. A contagem do número de galhas foi realizada com auxílio de uma lupa e do contador manual. Os ovos foram extraídos conforme a metodologia de Hussey e Barker (1973) modificada por Boneti e Ferraz (1981) e a contagem foi feita usando microscópio óptico.

Análise dos dados

Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas através do teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa de análises estatísticas Sivar (Ferreira, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi possível fazer a avaliação o controle biológico do nematoide das galhas pelos dois isolados de fungos predadores de nematoides, uma vez que a cultivar de agrião testada mostrou-se resistente ao parasitismo do nematoide das galhas, como observado pela ausência de galhas na testemunha (Tabela 1). Quanto ao efeito dos isolados fúngicos no crescimento vegetativo da rúcula, ambos os isolados fúngicos aumentaram significativamente o peso seco, fresco e o peso das raízes, em comparação com a testemunha (Tabela 1). O isolado JCO foi o que proporcionou o melhor crescimento do agrião (Tabela 1).

Tabela 1 -Redução do parasitismo do nematoide das galhas na rúcula e promoção de crescimento com aplicação de fungos predadores de nematoides

Tratamentos	Peso fresco	Peso seco	Peso de raízes	Galhas/sistema radicular
Fungo (JCO)	9,41 a	1,17 a	1,13 a	1 a
Fungo (Catolândia)	4,57 b	0,63 b	0,73 a	0 b
Testemunha	1,88 c	0,20 c	0,14 b	0 b
CV%	19,86	24,44	27,13	14,43

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível 5% de probabilidade.

Essa capacidade dos fungos predadores de nematoides em aumentar o crescimento vegetativo das plantas já foi observada em outras espécies de plantas. Singh et al (2007) ao avaliarem o controle do nematoide das galhas com aplicação de fungos predadores de nematoides do gênero *Arrobotrys*, na cultura do arroz, também observaram aumento do crescimento vegetativo das plantas. Esse maior desenvolvimento vegetativo da rúcula, proporcionado pela presença de fungos predadores de nematoides no substrato, está relacionado com uma maior capacidade de absorção do fósforo no solo. Trabalhos já

demonstraram a capacidade de fungos predadores de nematoides em solubilizar o fosforo. Duponnois, Kisa e Plenchetee (2006) avaliaram *in vitro* e *in vivo* a capacidade do fungo predador de nematoide *A. oligospora* quanto à sua capacidade de solubilizar fosfato natural. Em solo deficiente em fósforo sem adição fosfato natural, a solubilização de fósforo foi aumentada pela adição de *Arthrobotrys oligospora*.

A preservação de culturas de microrganismos utilizados em programas de controle biológico é um pré-requisito para um grande número de procedimentos industriais e de pesquisa (MOTA et al., 2003). Existe uma grande quantidade de métodos disponíveis para estoque e preservação de isolados fúngicos, organizados em três categorias: crescimento contínuo, secagem e suspensão de metabolismo.

O desenvolvimento de formulações fúngicas para uso no controle biológico é um dos principais passos para a produção comercial destes microrganismos. Entretanto, não podemos nos esquecer do fator econômico. Deste modo, pesquisas que visam produzir material fúngico de maneira economicamente viável são extremamente necessárias além de ser um passo importante para viabilizar a produção comercial de fungos nematófagos (MOTA et al. 2003).

5. CONCLUSÃO

Os isolados de fungos predadores de nematoide foram eficientes em proporcionar aumento do crescimento vegetativo da rúcula, no entanto, não foi possível avaliar a redução do parasitismo do nematoide das galhas, pois as plantas de rúcula testadas se mostraram resistentes ao nematoide.

Novos trabalhos deverão ser conduzidos para avaliar o potencial dos fungos predadores de nematoides no controle de *M. incognita* usando cultivares suscetíveis ao parasitismo do nematoide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 5. ed. Elsevier Academic Press. 2005, 903p.

Araújo, J. V.; Mota, M. A.; Campos, A. K.; CONTROLE BIOLÓGICO DE HELMINTOS PARASITOS DE ANIMAIS POR FUNGOS NEMATÓFAGOS. Rev. Brás. Parasitol. Vet., Ouro Preto, v.13, 2004.

CARRIJO, O. A.; VIDAL, M. C.; REIS, N. V. B. DOS; SOUZA, R. B. DE; MAKISHIMA, N. Produtividade do tomateiro em diferentes substratos e modelos de casas de vegetação. Horticultura Brasileira, v. 22, n. 1, p. 05-09, jan./mar. 2004.

CARNEIRO M. A. A.; C. S. A. BRANCO; C. E. D. BRAGA; E. D. ALMADA; M. B. M. COSTA; V. C. MAIA & G. W. FERNANDES. 2009. Are gall midge species (Diptera, Cecidomyiidae) host plant-specialists? **Revista Brasileira de Entomologia** 53: 365-378.

COELHO M. S.; E. D. ALMADA; G. W. FERNANDES; M. A. A. CARNEIRO; R. M. SANTOS; A. V. QUINTINO & A. SANCHEZ-AZOFEIFA. 2009. Gall inducing arthropods from a seasonally dry tropical forest in Serra do Cipó, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** 53: 404-414.

CARBONI, R. Z.; MAZZONETTO, F. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de Meloidogyne incognita em tomateiro em ambiente protegido. Revista Agrogeoambiental, Pouso Alegre, v. 5, n. 2, caderno II, p.61-66, ago. 2013.

CHITWOOD, D. J. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service. Pest Management Science, West Sussex, v. 59, p.748-753, 2003.

DINARDO-MIRANDA, L.L. Manejo Integrado de Pragas em Cana-de-Açúcar. 2002.

DUARTE, D.A.F. et al. Reação de genótipos de sorgo ao nematoide das lesões radiculares. Anais da Semana Agronômica da Faculdade Evangélica de Goianésia, v.8, 2018.

FERRAZ, LC.C.B.; ASMUS, G.L.; CARNEIRO, R.G.; MAZAFERRA, P.; SILVA, J.F.V. Relações parasito-hopedeiro nas meloidoginoses da soja. Embrapa Soja, Londrina, PR, p. 39-56, 2001

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G de; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo Sustentável de Fitonematóides**. Viçosa, MG. Editora UFV, 306 p. 2010.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. Nematologia de Plantas: fundamentos e importância. Sociedade Brasileira de Nematologia. Manaus: Norma, 2016.

FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2008. 421p GALBIERI, R. ; BELOT, J. L. (Ed.). Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle. Cuiabá: IMAmt. p. 11-36.

GRANGEIRO, L.C.; FREITAS, F.C.L.; NEGREIROS, M.Z.; MARROCOS, S.T.P.; LUCENA, R.R.M.; OLIVEIRA, R.A. Crescimento e acúmulo de nutrientes em coentro e rúcula. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.1, p.11-16, 2011.

GRAMINHA, E. B. N.; MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; CÂNDIDO, R. C.; SILVA, G. F.; COSTA, A. J.; Avaliação in vitro da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. Semina: Ci. Agrárias, Londrina, v.22, n.1, p.11-16, jan./jun. 2001.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: Root-knot Nematodes. PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds.). CABI International, Cambridge, MA, USA: 1-17, 2009.

KARSSSEN, G. & MOENS, M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry, R.L. & Moens, M. (eds). Plant Nematology, Cambridge, MA, CABI North America Office, p. 59-90.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A. ; CASTRO, L. H. S. (Org.). Diagnose de fitonematoides. Campinas: Millennium, 2016. v. 1, p. 14.

LUC, M.; BRIDGE, J.; SIKORA, R. A. Reflections on Nematology in Subtropical and Tropical Agriculture. In: LUC, M.; BRIDGE, J.; SIKORA, R. A. (Eds.). **Plant Parasitic in Subtropical and Tropical Agriculture**. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 1 – 0, 2005.

MARTINS, G. Cultivo em ambiente protegido: o desafio da plasticultura. In: FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa: UFV, 2000. p. 135-153.

MANZANILLA-LÓPEZ, R.H.; EVANS, K.; BRIDGE, J. Plant Diseases Caused by Nematodes. In: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. Nematology: Advances and perspectives. Vol 2. CABI International, Cambridge, MA 02139, USA, 2004

MANZANILLA-LÓPEZ R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. Pochonia chlamydosporia: advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of

sedentary endoparasitic nematodes. *Journal of Nematology*, Flórida, USA, v. 45, n. 1, p. 1-7, mar. 2013.

MEDINA, I.L.; GOMES, C.B.; ROSSI, C.; CARNEIRO, R.M.D.G. Characterization and identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) from fig trees in Rio Grande do Sul and São Paulo States of Brazil. *Nematologia Brasileira*, v.30, p.179–187, 2006.

MICHEREFF, Prof. Sami J. Fundamentos da Fitopatologia. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

MOENS, M.; PERRY, R.N.; STARR, J.L. (2009) *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J.L. (Eds). Root-knot nematodes, **CAB International**, Wallingford, UK, pp. 01-17.

MOENS, T., YEATES, G. W.; DE LEY, P. Use of carbon and energy sources by nematodes. *Nematology Monographs and Perspectives*, Leiden, v. 2, p. 529-545, 2004.

MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesq. Vet. Brás.* v.23, n.3, p.93-100, jul./set. 2003.

MOURA, R.M. O Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. Revisão Anual de Patologia de Plantas. (Ed.). Passo Fundo: RAPP, v. 5, cap. 8, p. 281-315, 1997.

NASCIMENTO, M.; RIBEIRO, A. Incidência de *Escherichia coli* e *Salmonella* em Alface (*Lactuca sativa*). **Higiene Alimentar**, São Paulo, vol. 19, n° 128, p. 121 – 124, 2005.

NAZARENO GG; RESENDE AM; PEIXOTO JR. 2010. Efeito da matéria orgânica na multiplicação de nematoide das galhas em alface sob cultivo protegido. *Bioscience* 6: 525-530.

PERRY, R.N.; MOENS, M & STARR, J.L. 2009. Root-knot nematodes. In: Eisenback, J.D. & Hunt, D.J. (eds). *General morphology*. Virginia, USA. CABI International, p. 18-54.

PINHEIRO, J. B, L. S. BOITEUX, R. B. PEREIRA, M. R. A. ALMEIDA, AND R. M. D. G. CARNEIRO. 2014. Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 102, Embrapa Hortaliças, 16p.

ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N.; WILCKEN, S. R. Reprodução de *eloidogyne javanica* em Olerícolas e em Plantas Utilizadas na Adubação Verde. **Tropical Plant Pathology**, vol. 38, n° 2, p. 133 – 141, 2013.

SANTOS, E.S. et al. Produtividade e controle de nematoides do inhame com plantas antagonicas e resíduo orgânicos. *Tecnol. Ciênc. Agropec.*, v.3, n.2, p.7-13, 2009.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E. The Molecular Basis of Shoot Responses of Maize Seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 Inoculation of the Root: A Proteomic Approach. *Plant Physiology*, v. 147, p. 2147–2163, 2008.

SCHMITT, J.; BELLÉ, C. Reaction of soybean cultivars to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. *Nematropica*, Flórida, v. 46, n. 1, p. 76-80, may. 2016.

TRANI, P. E.; FORNASIER, J. B.; LISBÃO, R. S. Cultura da rúcula. Boletim técnico do Instituto Agronômico. Campinas: Instituto Agronômico, 1992. 8 p. (Instituto Agronômico, n. 146)