



# Fungos antagonistas e suas combinações contra *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro

*Antagonist fungi and their combinations against Meloidogyne spp. on tomato cultivation soil without the presence of host*

Alex Barbosa **MAFESSONI**<sup>1,3</sup>; Bismark Lopes **BAHIA**<sup>2</sup>; Ivan Vilas Bôas **SOUZA**<sup>1</sup>; Roberlan Ferreira da **SILVA**<sup>1</sup>; Tiyoko Nair Hojo **REBOUÇAS**<sup>1</sup> & John Silva **PORTO**<sup>1</sup>

## RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito antagonista isolado e combinado de *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum* e *Pochonia chlamydosporia*, em diferentes doses e épocas de extração, sobre *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro. Conduziu-se o experimento na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus Vitória da Conquista. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8 x 3 x 3, totalizando 72 tratamentos, com três repetições. Avaliou-se o número de juvenis vivos de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. no solo. Todos os tratamentos com antagonistas diferiram estatisticamente da testemunha, com redução significativa do número de juvenis de segundo estágio vivos (20 a 60%, aproximadamente). O aumento das doses reduziu linearmente o número de juvenis vivos. O maior período decorrido, desde a implantação até a extração, também reduziu linearmente o número de juvenis vivos. Nas condições estudadas, o fungo *Pochonia chlamydosporia* proporciona maior controle de juvenis de *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro. O aumento das doses dos antagonistas e o tempo de contato/reinoculação aumentam o controle de juvenis de *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro.

**Palavras-chave:** controle biológico; *Pochonia chlamydosporia*; *Trichoderma harzianum*; *Trichoderma longibrachiatum*.

## ABSTRACT

The objective was to evaluate the isolated and combined antagonistic effect of *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum* and *Pochonia chlamydosporia* at different doses and periods of extraction on *Meloidogyne* spp. in tomato cultivation soil without the presence of host. The experiment was conducted at Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista campus. The experimental design was completely randomized, in a factorial scheme 8 x 3 x 3, totaling 72 treatments, with three replications. The number of alive juveniles of second stage of *Meloidogyne* spp. in the soil was evaluated. All treatments with antagonist statistically differed from the control treatment, with significant reduction of the number of alive second stage juveniles (20 to 60%, approximately). The increase in doses linearly reduced the number of alive juveniles. The longer period, from implantation to extraction, also linearly reduced the number of alive juveniles. Under the studied conditions, the fungus *Pochonia chlamydosporia* is the one that provides greater control of juveniles of *Meloidogyne* spp. in tomato cultivation soil without the presence of host. The increase of the doses of antagonists and of the time of contact/ reinoculation increases the control of juveniles of *Meloidogyne* spp. in tomato cultivation soil without the presence of host.

**Keywords:** biological control; *Pochonia chlamydosporia*; *Trichoderma harzianum*; *Trichoderma longibrachiatum*.

Recebido em: 29 jun. 2018

Aceito em: 8 ago. 2019

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Estrada do Bem Querer, km 04 – CEP 45031-900, Vitória da Conquista, BA, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, BA, Brasil.

<sup>3</sup> Autor para correspondência: alexmafessoni@gmail.com.

## INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais importantes em termos de produção e valor econômico mundial. No Brasil, a produção de tomates tem se destacado nos últimos anos, em função do elevado nível de tecnologia adotado pelos produtores (HOTT *et al.*, 2014). A produção nacional em 2017 foi de 4.373.047 t (IBGE, 2018), sendo os estados de Goiás, São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco e Bahia os maiores produtores, responsáveis por 77% da produção anual de tomate (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O parasitismo por nematoides do gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoides das galhas, está entre os principais problemas fitossanitários de maior importância econômica para a cultura do tomateiro, resultando em perdas de produtividade na ordem de 30 a 80% (CHARCHAR & ARAGÃO, 2005).

Os danos causados por qualquer espécie de nematoide dependem da densidade populacional desses fitoparasitas quanto à massa de raízes e ao vigor das plantas em tolerar altas populações destes (FERREIRA *et al.*, 2012; FREITAS *et al.*, 2012). O estresse provocado pelo parasitismo de nematoides pode influenciar direta ou indiretamente o rendimento e a sobrevivência de plantas de tomateiro, uma vez que as raízes são danificadas e o tamanho e o vigor das plantas são reduzidos, colocando as plantas parasitadas em desvantagem em relação às plantas adjacentes na disputa por água, nutrientes e luz (PINHEIRO *et al.*, 2014).

O controle biológico vem destacando-se nos últimos anos como alternativa viável para o controle de nematoides. Consiste na utilização de organismos vivos que possuam efeito antagônico sobre nematoides, reduzindo sua população (SOARES *et al.*, 2017). Os mecanismos envolvidos podem ser: antibiose, predação, indução de resistência da planta hospedeira, produção de enzimas e toxinas, colonização sistêmica da planta hospedeira, competição por nutrientes e por sítios de colonização. De acordo com Siddiqui & Akhtar (2009), quando os organismos possuem diferentes mecanismos de ação ou atuam sobre diferentes estágios do ciclo de vida do patógeno, o efeito sobre populações de nematoides tende a ser superior.

Entre os microrganismos promissores para o controle de nematoides estão os fungos de solo *Trichoderma* spp. e *Pochonia* spp., que reúnem características desejáveis, tais como fácil multiplicação, sobrevivência e efeito antagônico. No entanto grande parte dos estudos com esses microrganismos foi feita de forma isolada e com doses fixas, o que leva ao questionamento referente ao possível efeito sinérgico entre eles.

Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito antagonista de *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum* e *Pochonia chlamydosporia*, isoladamente e de forma combinada, em diferentes doses e épocas de extração, sobre *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença do hospedeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em telado da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista (BA), durante o período de setembro a novembro de 2017. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região de abrangência do município de Vitória da Conquista é do tipo Am, tropical úmido.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 8 x 3 x 3, sendo o primeiro fator composto pelos controles biológicos: *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianum*, *Pochonia chlamydosporia*, *T. longibrachiatum* + *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* + *P. chlamydosporia*, *T. harzianum* + *P. chlamydosporia*, *T. longibrachiatum* + *T. harzianum* + *P. chlamydosporia* e uma testemunha. O segundo fator foi composto pelas três doses: 2, 4 e 6 g (na forma comercial, armazenada em arroz), com concentração de  $2 \times 10^8$  UFC g<sup>-1</sup>, aplicada no volume de 25 ml de calda/parcela. O terceiro fator foi composto pelas três épocas de extração: 30, 60 e 90 dias após a implantação, com nove repetições.

O solo utilizado no experimento foi retirado de área de cultivo de tomate com ocorrência de nematoides, na fazenda Agropimenta, localizada na Rodovia Mucugê-Ibicoara (BA), na profundidade de 0-30 cm. Após a chegada do solo, realizou-se uma extração, de acordo com a metodologia proposta por Jenkins (1964), para confirmar a presença de nematoides. Depois de confirmada a presença, prosseguiu-se com o enchimento das unidades experimentais, sendo elas compostas por sacolas de polietileno com dimensões 12 x 10 x 0,15, com capacidade aproximada de 500 g solo/sacola. No momento da implantação, efetuou-se a primeira aplicação dos tratamentos; as demais aplicações ocorreram aos 30 e 60 dias.

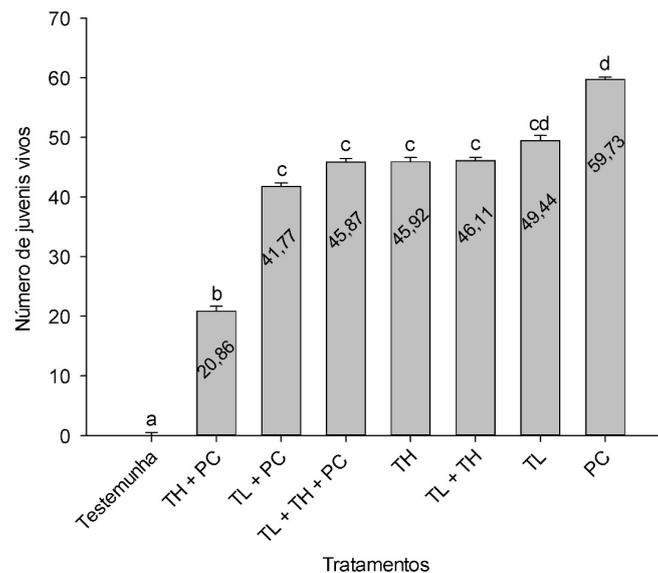
Durante todo o período de condução do experimento, fez-se o molhamento diário das parcelas, com a finalidade de manter a viabilidade dos microrganismos antagonistas e dos fitonematoides. A temperatura média durante o período de condução do experimento se manteve entre os 17 e 21°C, segundo dados obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia.

A extração dos juvenis ( $J_2$ ) de *Meloidogyne* spp. foi realizada em alíquotas de 300 g de solo, pelo método do peneiramento (peneiras de 20 Mesh, 100 Mesh e 500 Mesh) e centrifugação em solução de sacarose (JENKINS, 1964). Os  $J_2$  que ficaram retidos na peneira de 500 Mesh foram transferidos para tubos de ensaio e, após 24h, descartou-se o sobrenadante, deixando-se aproximadamente 4 ml por tubo. Em seguida foram contabilizados em câmara de contagem com capacidade para 1 ml, em microscópio óptico, que foi posteriormente extrapolada para 2 ml. O mesmo procedimento foi realizado aos 30, 60 e 90 dias após o início do experimento.

Os dados foram tabulados e transformados por  $\sqrt{x}$  e testados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk). Para análise de variância, utilizou-se o software Sisvar versão beta 5.6 (FERREIRA, 2011). Quando significativo, aplicaram-se o teste de Tukey para dados qualitativos e o teste de regressão para dados quantitativos, ao nível de 5% de probabilidade. Para a confecção dos gráficos, recorreu-se ao software SigmaPLOT versão 12.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo, de forma isolada, para todos os fatores. Na figura 1 estão apresentadas as porcentagens de controle de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp., promovidas pela aplicação dos fungos antagonistas em relação à testemunha, sem aplicação.



**Figura 1** – Letras distintas nas barras diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Porcentagem de controle de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. promovida pelos tratamentos: *T. harzianum* + *P. chlamydosporia* (TH + PC), *T. longibrachiatum* + *P. chlamydosporia* (TL + PC), *T. longibrachiatum* + *T. harzianum* + *P. chlamydosporia* (TL + TH + PC), *T. harzianum* (TH), *T. longibrachiatum* + *T. harzianum* (TL + TH), *T. longibrachiatum* (TL) e *P. chlamydosporia* (PC) em relação ao tratamento controle.

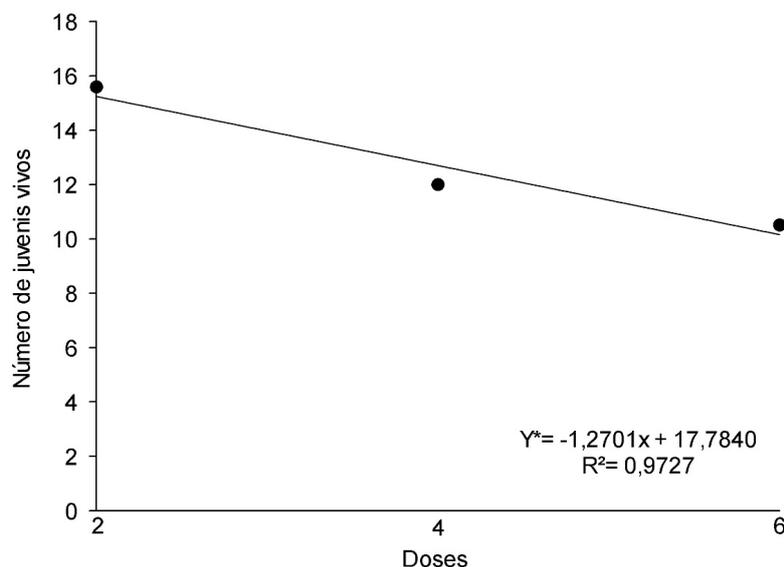
Observa-se que todos os fungos antagonistas e suas relativas combinações promoveram redução estatisticamente significativa no número de juvenis vivos, quando se compara com o tratamento controle sem aplicação. Os antagonistas promoveram reduções variando de 21 a quase 60% no número de juvenis em relação ao tratamento controle.

O fungo antagonista *P. chlamydosporia* foi o tratamento mais eficiente na redução de juvenis, apresentando redução próxima a 60%. Os tratamentos *T. longibrachiatum* + *P. chlamydosporia*, *T. longibrachiatum* + *T. harzianum* + *P. chlamydosporia*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* + *T. harzianum* e *T. longibrachiatum* apresentaram efeito antagonista semelhante, com reduções no número de juvenis variando de 41 a 49%. A combinação de *T. harzianum* + *P. chlamydosporia* foi o tratamento que evidenciou menor redução com fungos antagonistas.

Os relatos na literatura sobre os efeitos antagônicos desses fungos dizem respeito ao efeito isolado de cada antagonista. Os resultados encontrados neste estudo corroboram o obtido por alguns autores: Sharma & Pandey (2009) descreveram o controle da população de *Meloidogyne incognita* por *T. harzianum*; Dallemole-Giaretta et al. (2010) reportaram que *P. chlamydosporia*, aplicado isoladamente, diminuiu em 48% o número de galhas e em 80% o número de ovos de *Meloidogyne javanica*; Al-Shammari et al. (2013) revelam que a mortalidade máxima de juvenis (64,5%) de *Meloidogyne javanica in vitro* em tomate foi notada pelo filtrado de *T. longibrachiatum*; Arain et al. (2015) relataram redução notável da infecção de *Meloidogyne incognita* pela aplicação de *T. harzianum*.

A combinação de diferentes antagonistas não aumentou o controle do nematoide, diferentemente do observado por Siddiqui & Akhtar (2009). Isso provavelmente se deu em virtude de o presente trabalho não ter tido a presença do hospedeiro, assim como ter avaliado combinações diferentes. Pode-se ainda supor que os microrganismos testados competem entre si, dificultando a ação em conjunto.

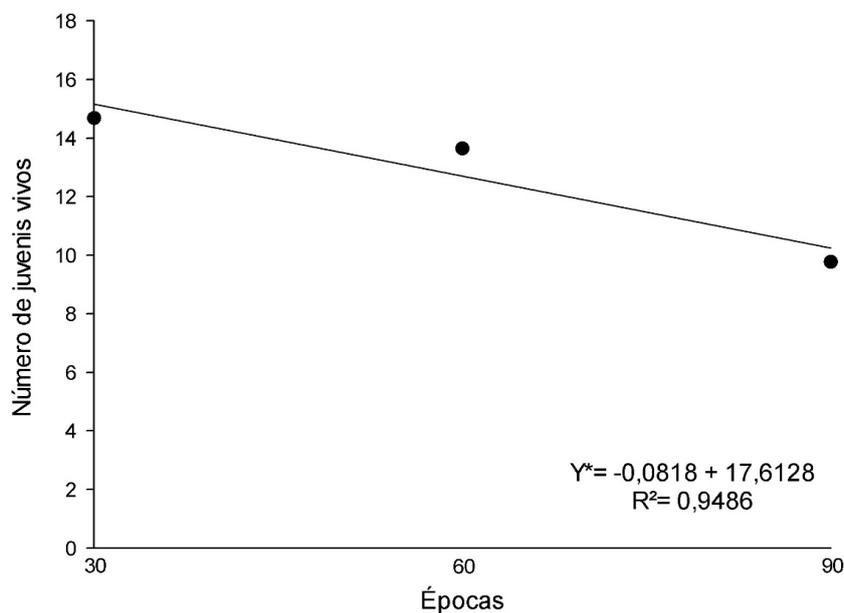
A figura 2 expõe a redução no número de juvenis vivos com o aumento da dose dos diferentes antagonistas.



**Figura 2** – Efeito das doses 2, 4 e 6 g ( $2 \times 10^8$  UFC g<sup>-1</sup>) dos fungos antagonistas no número de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate, sem a presença de hospedeiro.

A tendência de aumento no controle sugere que doses maiores são capazes de aumentar o controle de juvenis do *Meloidogyne* spp., confirmando o que foi divulgado por Dallemole-Giaretta et al. (2014), que estudaram doses de substrato contendo micélio e conídios de *Pochonia chlamydosporia* para o manejo de *Meloidogyne javanica*. Diante disso, sugere-se que sejam conduzidos experimentos com doses maiores dos fungos antagonistas.

A figura 3 mostra que o controle dos juvenis aumenta com o passar do tempo, fato causado pelo aumento do tempo de contato dos antagonistas com o patógeno e a reinoculação dos fungos antagonistas.



**Figura 3** – Efeito do tempo de contato do antagonista e da reinoculação no número de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate, sem a presença de hospedeiro.

A quantidade de fungo aplicada, na primeira época de extração, foi menor que a aplicada na segunda, que foi menor que a da terceira. Outro fator que justifica esse maior efeito é a maior ação dos antagonistas nos ovos.

Dallemole-Giaretta *et al.* (2008) relatam controle de até 82% de ovos de *Meloidogyne javanica* com o uso de *P. chlamydosporia* em solos cultivados com tomateiro. Freitas *et al.* (2012) citam que *Trichoderma* spp. controla os ovos e as formas juvenis de *Meloidogyne incognita*. Fernandes *et al.* (2014) encontraram mortalidade de 80% dos ovos de nematoide com o mesmo fungo e cultura. O tempo leva à produção de mais ovos e à morte natural dos adultos. De acordo com Pinheiro *et al.* (2014), o ciclo biológico desses fitopatógenos completa-se, em média, com 21 a 45 dias. Além disso, o aumento da dose justifica o maior controle ao longo do tempo, sendo reforçado pelo resultado visto na figura 2. Por outro lado, o maior tempo de contato dos fungos antagonistas com o nematoide pode justificar o maior controle. Segundo Dallemole-Giaretta *et al.* (2008), o aumento da exposição do nematoide ao antagonista aumenta a sua eficiência.

## CONCLUSÃO

Nas condições estudadas, o fungo *Pochonia chlamydosporia* é o que proporciona maior controle de juvenis de *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro.

O aumento das doses dos antagonistas e o tempo de contato/reinoculação aumentam o controle de juvenis de *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro.

## REFERÊNCIAS

- Al-Shammari, T. A., A. H. Bahkali, A. M. Elgorban, M. T. El-Kahky & B. A. Al-Sum. The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpina* against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2013; 7(Special edition): 199-207.
- Arain, R. R., R. N. Syed, A. Q. Rajput, M. A. Khanzada, N. A. Rajput & A. M. Lodhi. Comparative efficacy of *Trichoderma harzianum*, neem extract and furadan on *Meloidogyne incognita* infecting tomato plant growth. *Pakistan Journal of Nematology*. 2015; 33(1): 105-112.
- Charchar, J. M. & F. A. S. Aragão. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. *Nematologia Brasileira*. 2005; 29: 243-249.
- Dallemole-Giaretta, R., L. G. D. Freitas, D. M. Xavier, R. J. F. Zooca, S. Ferraz & E. A. Lopes. Incorporação ao solo de substrato contendo micélio e conídios de *Pochonia chlamydosporia* para o manejo de *Meloidogyne javanica*. *Ciência Rural*. 2014; 44(4): 629-633.
- Dallemole-Giaretta, R., L. G. Freitas, R. J. F. Zooca, L. B. Caixeta, E. A. Lopes & S. Ferraz. Controle de *Meloidogyne javanica* por meio da aplicação de palha de café colonizada por *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*. *Nematologia Brasileira*. 2010; 34(2): 137-140.
- Dallemole-Giaretta, R., L. G. Freitas, S. Ferraz, W. S. Neves, E. A. Lopes & M. M. Coutinho. Efeito da concentração de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*. 2008; 32: 327-332.
- Fernandes, R. H., B. S. Vieira, C. A. G. Fuga & E. A. Lopes. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. *Bioscience Journal*. 2014; 30(1): 194-200.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. 2011; 35(6): 1039-1042.
- Ferreira, P. A., S. Ferraz & L. G. Freitas. Sintomas causados por fitonematoides. In: Zambolin, L., W. C. Jesus Jr. & O. L. Pereira (ed.). *O essencial da fitopatologia*. Viçosa: Suprema; 2012. p. 203-222.
- Freitas, M. A., E. M. R. Pedrosa, R. L. R. Mariano & S. R. V. L. Maranhão. Seleção de *Trichoderma* spp. como potenciais agentes para biocontrole de *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar. *Nematropica*. 2012; 42(1): 115-122.
- Hott, M. O., V. L. S. Lima, L. R. Pereira, J. M. Souza & E. F. Reis. Produção de biomassa na fase vegetativa do tomateiro em função da tensão de água no solo. *Enciclopédia Biosfera*. 2014; 10(18): 2389-2398.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola (LSPA). 2018. [Acesso em: 22 abr. 2018]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=downloads>.
- Jenkins, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*. 1964; 48: 692.
- Oliveira, D. G., M. P. O. Martins, A. S. Umbelino, E. F. Reis & D. S. Colares. Correlação espacial de atributos físicos do solo e produtividade de tomate industrial. *Revista Agro@mbiente on-line*. 2017; 12(1): 385-394.
- Pinheiro, J. B., R. B. Pereira & F. A. Suinaga. Manejo de nematoides na cultura do tomate. *Embrapa Hortaliças – Circular Técnica*; 2014. 12 p.
- Sharma, P. & R. Pandey. Biological control of root-knot nematode; *Meloidogyne incognita* in the medicinal plant; *Withania somnifera* and the effect of biocontrol agents on plant growth. *African Journal of Agricultural Research*. 2009; 4: 564-567.

Siddiqui, Z. A. & M. S. Akhtar. Effects of antagonistic fungi and plant growth-promoting rhizobacteria on growth of tomato and reproduction of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Australasian Plant Pathology*. 2009; 38(1): 22-28.

Soares, P. L. M., D. D. Nascimento, R. L. Vidal & L. R. Vizentini. Controle biológico de nematoides. In: Baldin, E. L. L., A. Z. Kronka & I. F. Silva. *Inovações em manejo fitossanitário*. Botucatu: FEPAF; 2017. p. 167-232.