

## EFEITOS DE METABÓLITOS DE *Trichoderma* spp. NO BIOCONTROLE DE *Meloidogyne enterolobii*

DEYSE VIANA DOS SANTOS<sup>1</sup>  
VANESSA LOPES LIRA<sup>1</sup>  
ROMERO MARINHO DE MOURA<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Recife, Pernambuco.

<sup>2</sup> Academia Pernambucana de Ciência Agronômica.

<sup>3</sup> Academia Brasileira de Ciência Agronômica.

<sup>4</sup> Academia Pernambucana de Ciências.

Autor para correspondência: deysevianas25@gmail.com

**Resumo:** O presente estudo teve por objetivo testar o efeito de metabólitos secundários de cinco espécies do fungo do gênero *Trichoderma* sobre juvenis (J2) do fitonematoide *Meloidogyne enterolobii*, analisando-se mortalidade de J2s e eclosão. A pesquisa foi realizada em condições de laboratório (teste *in vitro*) e em condições de casa de vegetação (teste *in vivo*). As espécies utilizadas foram: *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum* e *T. brevicompactum*. Os metabólitos de cada fungo foram produzidos em frascos *Erlenmeyers* contendo o meio líquido Czapek-Dox e os juvenis a partir de raízes de tomateiro infectadas. O teste de mortalidade foi realizado em placas ELISA, considerando-se sete tratamentos: metabólitos de cada espécie (5), água destilada e o meio de cultura. Nas células da placa Elisa, isoladamente e de modo casualizado, foram vertidos 80µl de metabólitos de cada fungo, ou de água ou do meio de cultura. Em seguida, em cada uma dessas células foram colocados 50 juvenis recém eclodidos. Os resultados foram avaliados após 24 e 48h de submersão dos juvenis. Por meio da mesma metodologia, foi desenvolvido o estudo de eclosão, modificando-se, apenas, o tempo de submersão dos ovos, neste caso, 15 dias. Para os ensaios em casa de vegetação em vez de metabólitos de fungos foi utilizado 1g de arroz colonizado por cada espécie de fungo. Ao fim deste experimento, foi avaliada a taxa de reprodução do nematoide, número de massa de ovos e número de galhas, avaliados após 60 dias. Os resultados do teste de mortalidade apontaram que após 48 horas de submersão em *T. asperellum* e *T. longibrachiatum* mais de 90% dos juvenis estavam mortos. Para o teste de eclosão, todas as espécies de *Trichoderma* promoveram resultados expressivos de inibição, diferindo significativamente dos dois controles. Em casa de vegetação, *T. afroharzianum* apresentou os melhores resultados, considerando-se os parâmetros analisados. Em conclusão, as espécies de *Trichoderma* utilizadas demonstraram efeitos promissores para uso no biocontrole de *M. enterolobii*.

**Termos para indexação:** Controle biológico, exsudatos fúngicos, fitonematoides.

## EFFECT OF *TRICHODERMA* SPP. METABOLITES ON *MELOIDOGYNE* BIOCONTROL

**Abstract:** The present study was aimed with the objective to test the influence of *Trichoderma* species metabolites on juvenil surviving (mortality) and egg hatching in *Meloidogyne enterolobii*. The researches was carried out in laboratory conditions (test *in vitro*) and under greenhouse conditions (test *in vivo*). The used fungi were *T. asperellum*, *T. atroviride*, *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum* and *T. brevicompactum*. The metabolites were produced in Erlenmeyers flasks holding equal volume of liquid medium Czapek-Dox. The mortality test was performed using ELISA plates considering seven experimental treatments and the results been evaluated after 24 and 48h of juveniles immersion. Through the same methodology the test on egg hatching was developed except for the time of immersion of the egg in this case 15 days. For the greenhouse tests instead of fungus metabolites it was used 1g of rice colonized by each fungus species, separately. The evaluated data were reproduction rate of the nematode, egg masses and galls number evaluated 60 days later. The results for the mortality pointed out that after 48 hours of immersion in *T. asperellum* and *T. longibrachiatum* filtrates more than 90% of juveniles were dead. For the hatching test, all species of *Trichoderma* promoted expressive results with more than 94% of reduction in hatching, differing significantly from controls. In greenhouse conditoions, *T. afroharzianum* presented the best results in terms of reducing of egg mass number, reproduction rate and number of galls. As conclusion, the *Trichoderma* species used in this research revealed high potential as biocontrol agents of *M. enterolobii*.

**Index terms:** Biocontrol, fungal exsudates, biocontrol of plant-parasitic nematodes.

### INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma hortaliça amplamente cultivada no Brasil. Segundo Faostat (2018), em 2011, foram produzidas mais de 4,4 milhões de toneladas de tomate no território brasileiro. O Brasil é o nono maior país produtor de tomate, ocupando o primeiro lugar entre os países da América do Sul sendo a região Sudeste a mais produtora (CAMARGO; FILHO, 2008). As doenças são os principais indutores de danos à cultura, ocasionando sempre altas perdas (COSTA; VENTURA, 2010) e, entre essas doenças, se encontram as fitonematoses, presentes em quase todas as áreas de cultivo dessa solanácea. Diversos gêneros de

fitonematoides parasitam o tomateiro (SILVA, 2015) com destaque para o gênero *Meloidogyne*, Göldi, (Nematoda: Heteroderidae), conhecido popularmente por nematoide-das-galhas. Esse nome popular é devido aos sintomas primários da doença, que são intumescências ou galhas, que surgem nas raízes. Raízes parasitadas têm menor capacidade de absorver água e nutrientes, tornam-se mais susceptíveis a doenças vasculares e a organismos oportunistas causadores de necroses. Em resumo, pode-se afirmar que o nematoide-das-galhas é um dos principais problemas fitossanitários do tomateiro no Brasil e no mundo (PINHEIRO *et al.*, 2014).

Para o controle do nematoide-das-galhas existem cultivares resistentes porém, nem sempre disponíveis, e com frutos, muitas vezes, pouco adequados ao comércio local. O uso dos nematicidas sintéticos é ainda o método mais utilizado, mas vem sendo desconsiderado aos poucos, devido aos impactos ambientais, riscos de resíduos em alimentos e pelo preço elevado dos princípios ativos comercializados. Por isso, novas alternativas de controle vêm sendo estudadas e, neste aspecto, o controle biológico tem se mostrado promissor (SANTIN, 2008). Trata-se de um método de controle ainda pouco utilizado e que se destaca por não agredir o ambiente, não deixar resíduos tóxicos em alimentos e de fácil aplicação para todos os genótipos (COSTA, 2015). Dentre os micro-organismos biocontroladores de nematoides os fungos e as bactérias são considerados os mais efetivos (STIRLING, 2014). Neste sentido, o gênero *Trichoderma* Pers. (Eumycota: Moniliales) é um dos principais agentes atuando por meio de

mecanismos de antibiose e/ou parasitismo. A antibiose é exercida pelos efeitos dos exsudados ou metabólitos secundários lançados na rizosfera. Além disto, *Trichoderma* spp. não causa danos e, por outro lado, aumenta a tolerância das plantas aos estresses ambientais (EAPEN et al., 2005). Os efeitos de antibiose ou antagonismo dos metabólitos fúngicos vêm sendo estudados desde o século passado. Segundo Alves e Freitas (2014), alguns fungos produtores de metabólitos tóxicos no solo de rizosfera podem tornar uma planta menos atrativa aos fitonematoides, além de comprometer sua mobilidade no solo, afetando o padrão de penetração nas raízes. O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito nematicida de filtrados (exsudados ou metabólitos secundários) e de propágulos (micélio e conídios) de cinco espécies de *Trichoderma* sobre o nematoide *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback, o principal problema fitossanitário da goiabeira (*Psidium guajava* L.).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Isolamento e manutenção da população de *M. enterolobii* em casa de vegetação

Amostras de solo infestado e de raízes parasitadas pelo nematoide *M. enterolobii* foram coletadas em pomares comerciais no município de Camaragibe, Pernambuco. As amostras foram transportadas em sacos plásticos para o Laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores do Departamento de Micologia (UFPE), onde alíquotas de solo foram processadas por meio da técnica de Jenkins (1964) e raízes pelo método do liquidificador e centrífuga (COOLEN; D'HERDE, 1972) para extração de espécimes do nematoide. Dessa forma, foi obtida uma suspensão aquosa contendo fêmeas adultas

maduras, machos, juvenis e ovos de uma população identificados, pelo método enzimático como sendo *M. enterolobii*. Em seguida, visando à multiplicação e manutenção da população coletada, foram inoculadas plantas de tomateiro, de 30 dias de idade, cultivar Santa Cruz Kada Gigante reconhecidamente susceptível. Essas plantas foram obtidas em substrato formado pela mistura de solo e areia, na proporção de 2:1, devidamente autoclavado e envasado. A população foi mantida durante 90 dias em condições de casa de vegetação da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA), fornecendo-se

adubação mineral e irrigação quando necessárias.

### Obtenção dos filtrados fúngicos para os testes de biocontrole *in vitro*

Os isolados de *Trichoderma* utilizados para os testes de mortalidade e eclosão de J2 de *M. enterolobii* foram obtidos da Micoteca do Departamento de Micologia da UFPE com as seguintes identificações:

*Trichoderma afroharzianum* URM 7896,  
*Trichoderma asperellum* URM 7903,  
*Trichoderma brevicompactum* URM 7899,  
*Trichoderma longibrachiatum* URM 7897 e *Trichoderma atroviride*, todos obtidos de amostras de solo do Sítio São João, Município de Abreu e Lima. Os isolados foram purificados e, separadamente, repicados para placas de *Petri* contendo meio de cultura batata-

dextrose-ágar (BDA). Após sete dias de incubação a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , três discos de 5mm de diâmetro, de cada cultura, foram transferidos, assepticamente e isoladamente, para frascos *Erlenmeyer* de 250mL, contendo 100 mL do meio líquido Czapek-Dox, previamente esterilizado a  $120^\circ\text{C}$ , por 20 minutos. Após 15 dias, a  $27^\circ\text{C}$  e em agitação orbital, a 160rpm, todos os conteúdos dos frascos *Erlenmeyer* foram isoladamente filtrados, duas vezes seguidas, em papel *Whatman* n° 1, obtendo-se a fase líquida, denominada “filtrado fúngico”, que foram utilizados nos testes *in vitro*.

### Teste de biocontrole *in vitro* de *M. enterolobii* em placa ELISA

Foram feitas extrações de ovos a partir de raízes de tomateiro da população mantida em casa de vegetação, segundo o método de Hussey e Barker (1973). Para o teste de mortalidade, a metodologia foi a de Silva *et al.* (2002). Para isto, utilizou-se, novamente o sistema em placa ELISA. Portanto, a partir da suspensão de nematoides obtida pelo método de extração, acima descrito, 50 juvenis foram coletados em 20µl de água e, de imediato, adicionados aos 80µl dos filtrados já depositados em cavidades da placa ELISA, e nos controles água e meio de cultura. Deste modo, formaram-se sete tratamentos, distribuídos aleatoriamente na placa ELISA, assim caracterizados: 1 a 5- os diferentes filtrados fúngicos mais o nematoide; 6- o nematoide apenas em meio líquido Czapek-Dox e 7- o nematoide em água destilada. Foram utilizadas quatro

repetições para cada tratamento. Em seguida, as placas foram vedadas com filme plástico e colocadas em câmara de crescimento tipo BODa  $27^\circ\text{C}$ , com ausência de luz. Após 24 e 48 horas, foi realizada a avaliação da mortalidade com auxílio de um microscópio estereoscópico. No momento da avaliação, em cada cavidade da placa, foi adicionada 1 gota de hidróxido de sódio (NaOH) a 1M, a 1%, adaptando-se a metodologia proposta por Chen e Dickson (2000), para melhor visualização dos nematoides vivos. Foram considerados mortos os nematoides que apresentavam o corpo retilíneo por 3 minutos, após adição do NaOH. Para o teste de eclosão, foi utilizada a mesma metodologia, colocando-se, entretanto, 50 ovos por cavidade da placa ELISA. A avaliação foi realizada no 15° dia após os tratamentos. Os dados obtidos foram

transformados para  $\arcsen \sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA) com o auxílio do software SASM - Agri (CANTERI et al., 2001).

As médias obtidas foram comparadas por meio do teste de *Tukey* a 5% de probabilidade.

### Teste de biocontrole *in vivo* com plantas de tomateiro

Vinte e um dias após o plantio dos tomateiros, em recipientes contendo solos previamente esterilizados por autoclavagem, com a capacidade para 1 kg de solo, realizou-se a inoculação das plantas dos tratamentos com uma suspensão aquosa contendo 1.000 juvenis mais ovos. Essa concentração de inóculo representou a população inicial do experimento ( $P_i$ ). Três dias após, em torno do colo das respectivas plantas, foi adicionada 1g de massa micelial de cada fungo, isoladamente, obtida segundo Freitas (2012). Para isto, foram utilizados 30g de arroz parboilizado umedecido, em frascos *Erlenmeyers* de 250mL que foram postos em incubação a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante sete dias. Nesses *Erlenmeyers* foram colocados 15mL de água destilada, previamente esterilizada em autoclave por 20 minutos a  $120^\circ\text{C}$ , e propágulos de cada espécie do fungo separadamente. Para o tratamento controle, foi utilizado 1g de arroz não colonizado pelo fungo. Foram feitas

perfurações de 2cm de profundidade ao redor do colo das plantas e utilizadas quatro repetições. Foram formados sete tratamentos: os cinco fungos isoladamente mais o nematoide, testemunha inoculada apenas com o nematoide e testemunha absoluta. Os tratamentos foram distribuídos em bancadas da casa de vegetação, de forma inteiramente casualizada. Passados 60 dias da inoculação, as plantas foram cuidadosamente removidas do substrato e as raízes lavadas. Os solos e raízes foram processados para constatação da presença do nematoide e obtenção da população final ( $P_f$ ). Em cada planta, foram avaliados: número de massa de ovos, número de galhas e fator de reprodução do nematoide, obtida mediante a relação  $Fr = P_f/P_i$ . Os dados foram transformados em  $\sqrt{(x+1)}$  para análise estatística e a comparação das médias feito segundo o teste de *Tukey*, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Efeitos dos filtrados fúngicos nos teste *in vitro*

Os filtrados obtidos a partir das cinco espécies fúngicas utilizadas na presente pesquisa provocaram o aumento da mortalidade de juvenis de *M. enterolobii*, quando imersos por 24h. Os índices variaram de 6,17 a 88,22%. Quando imersos por 48h, a taxa de mortalidade aumentou, variando entre 20,70 a 95,64% (Tabela 1). Não houve aumento de mortalidade nos dois tipos de

testemunha (0,0%). Filtrados de *T. asperellum* e *T. longibrachiatum* se destacaram dos demais, tendo sido os mais eficazes, provocando 92,63 e 95,64% de mortalidade de formas juvenis, respectivamente.

De acordo com Silva et al. (2015), *T. asperellum* é um eficaz biocontrolador, com as suas propriedades biológicas envolvendo a

ação de enzimas hidrolíticas, tais como quitinases, proteases e glucanases, que são capazes de degradar paredes celulares de micro-organismos.

Sharon *et al.* (2007) demonstram a viabilidade do uso de *T. asperellum* no controle biológico de nematoides. As pesquisas desses autores mostraram resultados positivos de controle de *M. javanica*, sendo registrados até 50,5% na mortalidade. Entretanto, nesse caso, a ação sobre o nematoide se deu por parasitismo e não pela ação de antibiose, como no caso dos filtrados *T. asperellum* parasita também massa de ovos. Zhang *et al.* (2015) demonstraram o mesmo efeito parasitário, trabalhando com *T. longibrachiatum*, obtendo mais de 88% de controle, usando uma suspensão de conídios desse fungo sobre J2 de *M. incognita*. Pesquisadores constataram aumento da mortalidade de J2 da ordem de 64,5% de *M. javanica* por imersão em filtrados de *T. longibrachiatum* durante 72h (AL-SHAMMARI *et al.*, 2013). Pesquisa realizada por Freitas *et al.* (2012) confirmou a eficácia biocontroladora de *Trichoderma* sp.

usando 22 filtrados, isoladamente, promoveram aumento da mortalidade de J2 de *M. incognita*. Os filtrados desses fungos possuem ação tóxica sobre juvenis e adultos de *Meloidogyne* (DEVRAJAN; SEENIVASAN, 2002).

No presente trabalho, os filtrados de *T. atroviridee* *T. afroharzianum* foram responsáveis pelo aumento da mortalidade de *M. enterolobii* da ordem de 72,26% e 65,97%, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com Santin (2008), trabalhando com juvenis de *M. incognita*, expostos durante 24h ao filtrado de *T. atroviride*. O autor verificou 92,53% de J2 mortos. Do mesmo modo, Sellamiet *al.* (2017), usando filtrado de *T. atroviride*, induziram 56,4% de mortalidade de juvenis de *M. incognita*. Sikora *et al.* (2007) também registraram a eficácia de *T. atroviride* em estudos de biocontrole desse mesmo nematoide. O filtrado que proporcionou menor índice de mortalidade de juvenis de *M. enterolobii* foi o de *T. brevicompactum*, da ordem de 20,70%.

**Tabela 1** - Efeitos dos filtrados de *Trichoderma* na mortalidade de juvenis e na eclosão de J2 de *Meloidogyne enterolobii*, tratados por imersão.

Filtrados das culturas fúngicas	Mortalidade de juvenis (%)		Redução de Eclosão (%)*
	24h	48h	
<i>T. asperellum</i>	88,22 a	92,63 a	96,00 a
<i>T. atroviride</i>	38,61 b	72,26 ab	97,67 a
<i>T. afroharzianum</i>	17,00 bc	65,97 b	97,33 a
<i>T. longibrachiatum</i>	17,73 bc	95,64 a	97,67 a
<i>T. brevicompactum</i>	6,17 cd	20,70 c	94,67 a
Meio Czapek-Dox	0,0 d	0,0 d	3,30 b
Água destilada	0,0 d	0,0 d	0,0 b
CV (%)	35,84	21,71	9,91

Em cada coluna, médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

\*Porcentagem de ovos em que não ocorreu eclosão.

Valores transformados para  $\arcsen \sqrt{x/100}$ .

Foi constatado que todos os filtrados das espécies de *Trichoderma* promoveram redução da eclosão em mais de 94%, diferindo significativamente das testemunhas, que proporcionaram 3,30 e 0,0% em Czapek-Dox e água, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com estudos que demonstram que espécies de

*Trichoderma* são antagônicas a nematoides atuando na degradação da quitina, sempre presente na constituição do envoltório dos ovos dos nematoides (SANTIN, 2008). Esse fungo atua também no parasitismo de ovos de *Meloidogyne* spp. (FREITAS et al., 2012; SAHEBANI; HADAVI, 2008).

### Efeitos de propágulos de isolados de *Trichoderma* sobre *M. enterolobii* em teste *in vivo*

A diminuição do fator de reprodução obtida nos tomateiros ficou entre 82,88 a 6,95%, com *T. afroharzianum* e *T. brevicompactum* promovendo as maiores reduções, ou seja, 82,88 e 68,44%, respectivamente (Tabela 2). As demais espécies não afetaram significativamente o fator de reprodução. Esses resultados diferiram dos apresentados em estudo com o nematoide *M. incognita*, quando plantas de tomateiro foram inoculadas com suspensão de esporos de *T. asperellum*, pois, naquela pesquisa, apresentaram redução do fator de reprodução em mais de 50% (AFFOKPON et al., 2001). Affokpon et al. (2001) obtiveram com *T. brevicompactum* a diminuição do fator de reprodução de *M. incognita* em 71%, em plantas de tomateiro. A partir de uma suspensão de esporos de *T. atroviride*, Al-Hazmi e TariqJaveed (2016), obtiveram resultados positivos para biocontrole de *M. javanica*, com taxa de redução superior a 58%, em plantas de tomateiro. Muitos dos resultados divergentes podem ser atribuídos a diferenças metodológicas, controle dos experimentos e diferentes isolados fúngicos.

Em condições de casa de vegetação, usando-se plantas de tomateiro, os resultados não foram similares aos obtidos no teste *in vitro*. Essa diferença pode ser justificada por

fatores associados diferenciados, relativos aos experimentos. Entre esses fatores estariam diferentes condições ambientais (fatores físicos e químicos) e presença de micro-organismos no solo com condições de interferir nos resultados. Em relação ao número de massa de ovos, a ação de *Trichoderma* apresentou redução entre 12,63 a 77,17%. *Trichoderma asperellum* e *T. afroharzianum* foram os mais eficazes na redução do número de massa de ovos. Campos (1994) obteve redução em 61% de número de ovos de *Meloidogyne* sp. em cafeeiros tratados com *Trichoderma* sp. De acordo com Sharon et al. (2001) *T. asperellum* é eficiente no biocontrole de *M. javanica* no solo, sendo capaz de parasitar ovos e juvenis em estágio J2. Em sequência, *T. longibrachiatum*, *T. brevicompactum* e *T. atroviride* apresentaram menor redução do número de massa de ovos. Isto difere do relatado por Zhang et al. (2015) que obtiveram a redução de número de massa de ovos em mais de 80%, em tratamentos com *T. longibrachiatum*. Segundo Affokpon et al. (2001) em plantas inoculadas com suspensão de esporos os resultados apresentados foram diferentes, com *T. brevicompactum* suprimindo a produção de massa de ovos em 86%. Trabalhando com plantas de pimentão e utilizando o filtrado de *T. atroviride*, Herrera-Parra et al. (2017) obtiveram resultados que

diminuíram 28,62% número de massa de ovos para *M. incognita*.

**Tabela 2** - Efeitos de isolados de *Trichoderma* sobre *Meloidogyne enterolobii* (Me) no fator de reprodução (FR), número de massa de ovos (MO) e número de galhas (G) em raízes de plantas de tomateiro.

Tratamentos	F.R (PF/PI)	(%) -	M.O (unid.)	(%) -	G (unid.)	(%) -
*Testemunha	1,87 ab		255,25 ab		464,00 a	
Me + <i>T. longibrachiatum</i>	1,42 abc	24,06	120,25 bc	52,89	177,75 bc	61,69
Me + <i>T. afroharzianum</i>	0,32 c	82,88	58,25 c	77,17	125,50 c	83,13
Me + <i>T. atroviride</i>	2,00 a	6,95	478,25 a	12,63	362,75 a	21,81
Me + <i>T. brevicompactum</i>	0,59 bc	68,44	172,50 bc	32,41	153,50 bc	66,91
Me + <i>T. asperellum</i>	1,17 abc	37,43	62,25 c	75,61	78,25 c	83,13
CV (%)	14,01		26,56		22,62	

\*: Plantas inoculadas com *Meloidogyne enterolobii*

Em cada coluna, médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade. Valores transformados em  $\sqrt{(x+1)}$

PF: População final, PI: População inicial

(%): Porcentagem de redução

Em relação à ocorrência de número de galhas (Figura 1) os tratamentos com propágulos das espécies de *Trichoderma* promoveram reduções entre 21,81 a 83,13% em plantas inoculadas com *M. enterolobii*. Do mesmo modo ao apresentado para o número de massa de ovos, *T. asperellum* e *T. afroharzianum* foram os mais eficazes, diferindo significativamente da testemunha inoculada. Os tratamentos com *T. brevicompactum* e *T. longibrachiatum* também foram eficazes na redução do número de galhas. *Trichoderma*

*brevicompactum* promoveu mais de 43% de diminuição em tomateiros inoculados com *M. incognita* (AFFOKPON et al., 2001). Zhang et al. (2015) obtiveram resultados positivos para *M. incognita*, ocasionando mais de 77% de redução nos tratamentos com *T. longibrachiatum*. O isolado de *T. atroviride* não apresentou resultado positivo, com redução de apenas 6%. Os dados coincidem com os apresentados por Herrera-Parra et al. (2017), trabalhando com pimentão, com apenas 28,62% da redução de número de galhas para *M. incognita*. Os resultados obtidos

neste trabalho não se assemelham aos apresentados por Pereira et al. (2017) que obtiveram a redução em número de galhas de *M. javanica* de 42%, em plantas de tomateiro.

Os resultados contrastantes observados nessas pesquisas ao longo dos anos envolvendo diferentes espécies de nematoides, podem estar relacionados

a dois fatores: divergências metodológicas e diferentes isoladas com diferentes composições químicas dos seus exsudados. Entretanto, todos os resultados sempre apontam a possibilidade do uso prático dos metabólitos secundários de espécie de *Trichoderma* no controle de fitonematoides.

**Figura 1-** Raízes de tomateiro inoculadas com o nematoide *Meloidogyne enterolobii* e espécies fúngicas de *Trichoderma*. A: Testemunha inoculada apenas com o nematoide, B: *Trichoderma afroharzianum*, C: *T. brevicompactum* e *T. atroviride*, D: *T. asperellum* e *T. longibrachiatum*.



Foto/crédito: D. V. Santos.

## CONCLUSÕES

Todos os filtrados de *Trichoderma* mostraram efeito antagônico em relação a *M. enterolobii* nos testes *in vitro*;

Nos testes *in vivo*, *T. afroharzianum* se destacou das demais

espécies de *Trichoderma*, promovendo redução significativa do fator de reprodução, número de massa de ovos e número de galhas de *M. enterolobii* em plantas de tomateiro.

## REFERÊNCIAS

AFFOKPON, A.; COYNE, D. L.; HTAY, C. C.; AGBÈDÈ, R. D.; LAWOUIN, L.; COOSEMANS, J. Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 43, n. 3, p. 600–608, 2011.

AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEDD, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Saudi Arabia, v. 23, n. 2, p. 228-292, 2016.

AL-SHAMMARI, T. A.; BAHKALI, A. H. ; ELGORBAN, A. M. ; EL-KAHKY, M. T. ; AL-SUM, B. A. The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpine* against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, Shahjahanabad, v. 7, p. 199-207, 2013. Special edition.

ALVES, F. R.; FREITAS, L. G. Controle biológico de fitonematoides. In: ZAMBOLIM, L.; JESUS JÚNIOR, W. C.; RODRIGUES, F. A. (Ed.). **O essencial da fitopatologia: controle de doenças de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 2014. p. 235-264.

CAMARGO, F. P; CAMARGO FILHO, W. P. Produção de tomate de mesa no Brasil, 1990-2006: contribuição da área e da produtividade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 1018-1021, jul./ago. 2008.

CAMPOS, H. D. **Controle de *Meloidogyne incognita* raça 2 em feijoeiro e *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com fungos predadores e parasitas de ovos de fitonematoides**. 1994. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – área de concentração Fitossanidade) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1994.

CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM- Agri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Computação**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Viability of *Heterodera glycines* exposed to fungal filtrates. **Journal of Nematology**, College Park, v. 32, n. 2, p. 190-197, 2000.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77 p.

COSTA, H.; VENTURA, J. A. Doenças do tomateiro no Estado do Espírito Santo: reconhecimento e manejo. In: TOMATE. Vitória: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2010. p. 227-316.

COSTA, M. A. **Biocontrole de nematoides com fungos**. 2015. 44 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2015.

DEVRAJAN, K.; SEENIVASAN, N. Biochemical changes in banana roots due to *Meloidogyne incognita* infected with *Paecilomyces lilacinus*. **Current Nematology**, Bigleswade, v. 13, n. 1, p. 1-5, 2002.

EAPEN, S. J.; BEENA, B.; RAMANA, K. V. Tropical soil microflora of spice based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 88, n. 3, p. 218-225, 2005.

FAOSTAT. **Database results**. Disponível em: <http://apps.fao.org>. Acesso em: 10 ago. 2018.

FREITAS, M. A.; PEDROSA, E. M. R.; MARIANO, R. L. R.; MARANHÃO, S. R. V. L. Screening *Trichoderma* spp. as potential agents for biocontrol of *Meloidogyne incognita* in sugarcane. **Nematropica**, Bradenton, v. 42, n. 1, p. 115-122, 2012.

HERRERA-PARRA, E.; CRISTÓBAL-ALEJO, J.; RAMOS-ZAPATA, J. A. *Trichoderma* strains as growth promoters in *Capsicum annuum* and as biocontrol agents in *Meloidogyne incognita*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 77, n. 4, p. 318–324, 2017.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul, v. 57, n. 2, p. 1025-1028, 1973.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

JONES J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 14, p. 946-961, 2013.

PEREIRA, B. M. **Análise da superexpressão de genes candidatos à resistência a *Meloidogyne* spp. em raízes transgênicas de amendoim e soja**. 2017. xii, 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

PINHEIRO, J. B.; BOITEUX, L. S.; PEREIRA, R. B.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. M. D. G. **Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil**. Brasília, DF, Embrapa Hortaliça, 2014.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanicaby Trichoderma harzianum*. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 8, p. 2016–2020, 2008.

SANTIN, R. C. M. **Potencial do uso dos fungos *Trichoderma* spp. e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris***. 2008. 92 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SELLAMI, S.; BENTTOUMI, N.; BERRAHIA, S.; BOUREGHDA, H. Evaluation of antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Meloidogyne incognita*. **Acta**

---

**Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, Budapest, v. 52, n. 2, p. 177–184, 2017.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 7, p. 687–693, 2001.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS, G. J.; SPIEGEL, Y. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.118, v. 3, p. 247-258, 2007.

SIKORA, R. A.; SCHÄFER, K.; DABABAT, A. A. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant-parasitic nematodes. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, n. 2, p. 124-134, 2007.

SILVA, G. H.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P. Purificação de metabólitos fúngicos com efeitos tóxicos sobre *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, p. 594-598, 2002.

SILVA, O. S. *Meloidogyne incognita* na cultura do tomate: levantamento e manejo com produtos biológicos. 2015. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant-parasitic nematodes**. 2nd. ed. Wallingford: CAB International, 2014.

ZHANG, S., GAN, Y.; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 94, p. 21–29, 2015.