

Journal of Biotechnology and Biodiversity



journal homepage: https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index

Ação de agentes biológicos no controle de fitonematóides em alface

Samiele Camargo de Oliveira Domingues^{a*}, Marco Antonio Camillo Carvalho^a, Hudson de Oliveira Rabelo^a, Grace Queiroz David^a, Thatielen Furini^a, Amauri de Castro Barradas^a, Ben Hur Marimon Júniora

INFO

ABSTRACT

Keyworks

Azospirillum brasilense Bacillus subtilis Trichoderma spp.

Action of biological agents in the control of nematodes in lettuce

Lettuce cultivation has been hampered by phytosanitary problems, especially in the genus Meloidogynes sp.. In an attempt to minimize losses, cultivation practices that are efficient, low cost and with reduced environmental impact are sought, such as the use of biological control. This study aimed to evaluate the nematicidal potential of biological agents in *Meloidogyne* infestation for two crispy lettuce cultivars. A completely randomized design in a $2 \times 3 \times 7$ factorial scheme was used, with cultivars Mediterrânea and Solaris, three species Meloidogyne incognita, M. javanica and M. enterolobii, in combination with seven biological control agents (Treatment without control agent, Trichoderma viride, Bacillus subtilis, Azospirillum brasilense, and Three local isolates of T. atroviride). The use of biological agents proved to be promising for the lettuce cultivars Solaris and Mediterrânea. The microorganisms that stood out were B. subtilis and T. atroviride.

RESUMO

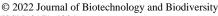
Palavras-chaves

Azospirillum brasilense Bacillus subtilis Trichoderma spp.

O cultivo da alface tem sido prejudicado por problemas fitossanitários, em especialmente o gênero Meloidogynes sp.. Na tentativa de minimizar prejuízos, busca-se práticas de cultivo que sejam eficientes, de baixo custo, e com reduzido impacto ambiental, tais como a utilização de controle biológico. Objetivouse avaliar o potencial nematicida de agentes biológicos em infestação de Meloidogyne para duas cultivares de alface crespa. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial $2 \times 3 \times 7$, sendo as cultivares Mediterrânea e Solaris, três espécies Meloidogyne incognita, M. javanica e M. enterolobii, em combinação com sete agentes de controle biológico (Tratamento sem agente de controle, Trichoderma viride, Bacillus subtilis, Azospirillum brasilense, e Três isolados locais de T. atroviride). A utilização de agentes biológico se mostrou promissora para as cultivares de alface Solaris e Mediterrânea. Os microrganismos que se destacaram foram B. subtilis e T. atroviride.

Received 13 January 2022; Received in revised from 08 April 2022; Accepted 20 April 2022

157



ISSN: 2179-4804

^a Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

^{*}Autor correspondente (samieledomingues@gmail.com)

INTRODUÇÃO

A alface é a mais importante espécie hortícola cultivada no Brasil, sendo importante fonte de renda, principalmente, para a agricultura familiar. No entanto, frequentemente tem-se verificado a incidência de doenças na cultura e, em consequência, a redução na produtividade e a perda de qualidade do produto comercializado, além do problema de resíduos de agrotóxicos, usados para o controle de pragas e doenças (Favarato et al., 2017).

Dos diversos problemas fitossanitários que podem afetar negativamente a cultura da alface, vem se destacando o severo ataque de fitonematoides, que atuam como importantes parasitas de tecidos vegetais, principalmente os que atacam as raízes (Ferraz e Brown, 2016; Oliveira et al., 2017). Os fitonematoides podem manter-se vivos e ativos em uma grande gama de hospedeiros (Scurrah et al., 2005), dificultando o seu controle.

Na cultura da alface tem sido um problema a ocorrência de nematóides das galhas, os *Meloidogyne* spp., esse gênero compreende parasitos obrigatórios de raízes e de caules subterrâneos, porém podem sobreviver em restos de culturas, principalmente em raízes ou tubérculos infectados ou mesmo na forma de ovos e juvenis disseminados no solo de cultivo (Ferraz, 1992; Pinheiro et al., 2015). Uma vez estabelecidos na área, não há controle, mais podem ter suas populações reduzidas e mantidas em níveis baixos, mas a erradicação total é praticamente impossível (Fiorini, 2005).

O manejo destes fitoparasitas tem sido realizado de maneira equivocada, com a aplicação de produtos não registrados para a cultura e com controle duvidoso, causando problemas legais e ameaca ao consumidor, além de contaminação do produto e do ambiente. Devido a isso, o controle dos fitonematóides em áreas de plantio de alface tem se mostrado problemático, e a rotação de cultura, método muitas vezes recomendado no controle desses parasitas de plantas, é de difícil utilização em virtude da necessidade de produção nas mesmas áreas, que se encontram próxima às indústrias de processamento ou consumidores (Pinheiro et al., 2013).

O uso de cultivares tolerantes seria, portanto, o método ideal de controle de fitonematoides em alface, no entanto, poucas são as cultivares. Com a perspectiva de produtos isento de agroquímicos, e um correto manejo para produção de alface, a tendência é a utilização dos microrganismos para o controle desses fitonematoides, contribuindo assim para a diminuição do uso de agroquímicos (Carneiro et al., 1996; Wiethan, 2015). Dentro dos inimigos naturais que os nematoides possuem, os mais empregados na agricultura para o controle

biológico são fungos e bactérias (Stirling, 1991; Carneiro, 1996).

De acordo com Cayrol e Ritter (1984) fungos predadores de nematoides, caracterizam por apresentar estruturas de captura especializadas, com capacidade de secretar substâncias colantes que prendem os nematoides. Nessa modalidade de parasitismo estão os *Trichoderma* spp., esse gênero é considerado importantes, e eficientes agentes biológicos que além de proteger as plantas contra doenças, também possuem mecanismos que promovem tanto a germinação de sementes como o desenvolvimento de algumas hortaliças (Wiethan, 2015).

Outro importante grupo de microrganismos que atuam como agentes biológicos são as bactérias, com diferentes modos de ação, e podem ser encontradas no solo, nos tecidos das plantas hospedeiras. As principais bactérias estudadas para controle biológico desses fitopatógenos são aquelas que habitam a rizosfera e têm a capacidade de invadir os tecidos internos das plantas, ou seja, as endofíticas facultativas, especialmente as do gênero Bacillus e Azospirillum (Machado et al., 2012). Essas bactérias podem agir de forma direta, afetando a eclosão ou a mobilidade das formas juvenis, através de toxinas absorvidos pelos ovos, ou de forma indireta, pela alteração dos exsudatos radiculares, dificultando a localização das raízes pelos nematoides, ou pela indução de resistência sistêmica, por meio do contato direto dessas bactérias com os tecidos radiculares (Machado et al., 2016).

O gênero *Bacillus* é uma bactéria naturalmente encontrada no solo, capaz de produzir antibiótico, enzimas e fito-hormônios, que são benéficos para as plantas. Assim, promovendo o crescimento vegetal, e possuindo também capacidade de controlar os fitopatógenos (Kloepper et al., 1999). Quanto á *Azospirillum* podem promover o aumento das atividades fotossintéticas e assimilação do nitrogênio nas plantas hospedeiras, pode causar antagonismo em fitopatógenos, a associação com diversas culturas, a produção de fitohormônios e a tolerância a variações de temperatura (Araújo, 2008).

Com base no exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o potencial nematicida de agentes de controle biológicos sobre três espécies de nematoides (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*) nas cultivares de alface Mediterrânea e Solaris.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido do Laboratório de Fitotecnia da

Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus Universitário de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial $2 \times 3 \times 7$, com 8 repetições, sendo duas alfaces por vasos. Os tratamentos foram constituídos de duas cultivares de alface crespa (Mediterrânea e Solaris), e três espécies de nematoides (M. incognita, M. javanica e M. enterolobii), combinados com sete Tratamentos (agentes de controle biológico). As formas de controle foram: testemunha sem agente biológico (CO), Trichoderma atroviride isolado de quiabo (Abelmoschus esculentus) (TQ); T. atroviride isolado de couve (Brassica oleracea) (TC), T. atroviride isolado de cogumelo comestível (Pleurotus pulmonarius) (TP); Trichoplus® (T. viride) (TT); Biobac® (Bacillus subtilis) (BS), e

Nitro Geo AZ® (*Azospirillum brasilense*) (AZ).

As unidades experimentais foram constituídas por vasos com capacidade de 3 dm³, preenchidos com substrato na proporção solo e areia (lavada) 3:1. Ambos os materiais foram esterilizados em autoclave por 90 minutos, a 121 °C (pressão de 1,0 atm). O solo utilizado foi coletado da camada de 0 a 20 cm de profundidade, na zona rural da região de Alta Floresta — MT, sendo caracterizado por Latossolo vermelho-amarelo. Após a coleta do solo, uma amostra do mesmo foi enviada para análise no Laboratório de Análises de Solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso (LASAF), para a determinação das características químicas e granulométrica (Tabela 1), seguindo a metodologia da Embrapa (Silva, 2009).

Tabela 1 – Distribuição das diferentes amostras aplicadas em substrato com a cultivar Prata.

| pН | P | K | Ca | Mg | Al | H+Al | V | Areia | Silte | Argila |
|--------------------------------------|-----|-----|-------------------------------------|------|----|------|------|--------------------|-------|--------|
| H ₂ Omg.dm ⁻³⁻ | | | cmol _c .dm ⁻³ | | | (%) | | g.kg ⁻¹ | | |
| 5,6 | 9,7 | 222 | 4,71 | 1,13 | 0 | 1,73 | 78,8 | 644 | 99 | 257 |

Obs: Análises realizadas seguindo a metodologia da Embrapa (2009). Fonte: Laboratório de Análises de Solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso – LASAF.

Não foi necessária correção de pH do solo, e a adubação seguiu a recomendação de Malavolta (1981), onde foram utilizados na semeadura 50 mg dm-3 de N (ureia – 45% de N), 200 mg dm-3 de P (Super Fosfato Simples – 18% P2O5) e 150 mg dm-3 de K (Cloreto de Potássio – 60% K2O), por vaso.

As espécies M. incognita, M. javanica e M. enterolobii foram fornecidas pelo Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV de Jaboticabal-SP, sendo utilizados separadamente cada espécie. As populações foram multiplicadas em raízes de tomateiro (Solanum lycopersicum) 'Santa Cruz Kada' durante 90 dias, após a inoculação. A extração dos fitopatógenos das raízes seguiu a metodologia de Coolen e D'Herd (1972), para tanto, as raízes foram lavadas, picotadas, trituradas em liquidificador por 30 segundos em baixa rotação com solução de hipoclorito de sódio (0,5%), e depois submetidas à peneiramento, as peneiras utilizadas foram em malhas de 250 e 400 Mesh. A quantificação das suspensões foi realizada através de alíquotas de 1,0 mL, sobre lâmina de contagem (Peters) (Handoo e Golden, 1989; Tihohod, 1997), sendo a contagem realizada em microscópio ótico, assim se definiu a população inicial estipulada em 1500 indivíduos (ovos e juvenis de segundo estágio) por vaso, para todos os tratamentos. A inoculação no substrato com os fitonematoides foi realizada com o auxílio de micropipeta, com 20 mL de suspensão, realizada 24 horas antes dos

transplantio das mudas de alface.

As mudas de alface utilizadas no experimento (BRS Mediterrânea e SVR 06511236 Solaris) foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido com 200 células, utilizando substrato comercial Carolina Soil®, um composto por turfa, vermiculita, resíduo orgânico, resíduo orgânico agroindustrial classe A, e calcário. Foram distribuídas duas sementes por célula, procedendose desbaste aos cinco dias após a semeadura, deixando-se apenas as maiores plântulas. As bandejas foram dispostas sobre bancada em ambiente protegido com irrigação microaspersão, com 6 mm diário. O transplantio para os vasos ocorreu aos 26 dias após a emergência, quando as mudas apresentaram três folhas definitivas.

Os tratamentos TQ, TC e TP avaliados neste trabalho, da espécie *T. atroviride*, fazem parte da coleção de fungos do Laboratório de Microbiologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus de Alta Floresta, esses três tratamentos foram isolados no município de Alta Floresta.

As soluções dos *Trichoderma* sp. foram preparadas utilizando esporos. Para o preparo das soluções utilizadas nos tratamentos com os isolados de *T. atroviride*, primeiramente foram produzidos esporos dos fungos a partir de colônias em meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA), em placas de

Petri (90 mm Ø), sendo mantidas em câmaras de crescimento do tipo B.O.D (Bilogical Oxygen Demand), regulada para temperatura constante de 25 °C, com variação de + 1°C, e o fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, durante 20 dias. Após esse tempo foi realizado o preparo da suspensão, na qual foi adicionado 10 mL de água destilada estéril por placa, e com auxílio da alça de Drigalski efetuouse a fricção sobre o micélio (Alfenas e Mafia, 2007).

Em seguida, uma alíquota de $100 \, \mu L$ da solução, foi depositada em câmara de Neubauer e observada em microscópico ótico a fim de efetuar a contagem dos esporos. A contagem foi realizada no compartimento 'C' $(1,0 \, \text{mm}^2)$ da câmara de Neubauer, após a contagem os dados foram calculados pela equação proposta por Alfenas and Mafia (2007) em que: N° médio de esporo em $2,5 \times 10^5$ esporos/mL.

Quanto aos tratamentos TT, BS e AZ, oriundos de produtos comerciais, utilizou-se as recomendações dos fabricantes para o preparo das soluções. A quantidade de esporos (TT) e estirpes de bactérias (BS e AZ) foi mantida em 5.0×10^6 de esporos/bactérias por mL⁻¹ para todos os tratamentos. O ajuste do número de esporos e estirpes de bactéria para a concentração deseja foi determinada com auxílio da seguinte equação:

$$Ci \times Vi = Cf \times Vf$$

Onde:

Ci – Concentração inicial da suspensão de esporos (esporos/mL);

Vi – Volume inicial da suspensão (mL);

Cf – Concentração final desejada (esporos/mL);

Vf – volume final da suspensão (mL).

Após o preparo das soluções, as raízes das mudas de alface foram imersas por uma hora nas soluções

de acordo com cada tratamento, que continham os microrganismos, e em seguida transplantadas nos vasos. As avaliações foram realizadas aos 34 dias após o transplantio das mudas. As variáveis avaliadas foram: altura da parte aérea (cm), número de folha (uni), diâmetro do caule (mm), área foliar (mm²), massa fresca total da parte aérea (g), e massa fresca da parte aérea comercial (g). O Altura da parte aérea foi obtido através da medição da distância da base do caule até o ápice da parte aérea. folhas de alface foram contadas. posteriormente submetidas no determinador de área foliar (modelo LI 3100, LICOR®), para mensuração de área foliar. As determinações do diâmetro foram realizadas com auxílio de paquímetro (150mm -DIGIMESS-100170). Massas fresca da parte aérea foram determinadas em balança de precisão (0,0001), em que após a pesagem da parte aérea total, foram retiradas as folhas de alface que visualmente representavam deterioração ou sinais de ataque de patógenos e insetos, mantendo apenas as folhas que permitiam boa aparência e qualidade para a comercialização.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar 4.6 (Ferreira, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embasando-se nos resultados obtidos para cultivar Mediterrânea e Solares, nota-se efeito significativos para os fatores individuais e interação entre espécie de *Meloidogyne* e agentes de biológico de controle para número de folhas, altura total da parte aérea e diâmetro do caule. Somente para a cultivar Solares em relação ao número de folhas e diâmetro do caule o fator *Meloidogyne* sp. não apresentou diferença significativa (Tabela 2).

Tabela 2 – Resumo da análise de variância (Valor de F) e coeficiente de variação (CV) para número de folhas (NF), Altura total da parte aérea (APA), e diâmetro do caule (DC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle biológico para *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*. Alta Floresta – MT, 2019.

| |] | Mediterrânea | | Solaris | | | |
|----------------------|---------|--------------|--------|---------|---------|---------|--|
| Fontes de Variação — | NF | APA | DC | NF | APA | DC | |
| rontes de variação — | uni | cm | cm | (uni) | (cm) | (cm) | |
| M | 44,24** | 16,62** | 9,99** | 27,70** | 15,26** | 27,70** | |
| AC | 4,63** | 3,79** | 2,34* | 0,69 ns | 3,62** | 0,69 ns | |
| $M\times AC$ | 2,19* | 2,88** | 3,99** | 4,25** | 3,55* | 4,25** | |
| CV (%) | 17,09 | 14,30 | 15,20 | 16,44 | 14,55 | 16,44 | |

Obs: **, * e ns correspondem respectivamente a significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste de Scott-Knott. Espécie de *Meloidogyne* sp. (M); Agentes de controle biológico (AC).

© 2022 Journal of Biotechnology and Biodiversity

ISSN: 2179-4804

Na Tabela 3 estão apresentados os desdobramentos da interação significativa entre espécie de *Meloidogyne* sp. e agentes de controle para número de folhas (NF), altura da parte aérea (APA), e diâmetro do caule (DC).

Avaliando os agentes de controle biológicos dentro de espécies de *Meloidogy* para o número de folhas (Tabela 3), verifica-se que na cultivar Mediterrânea as maiores médias foram para os tratamentos BS e CO na infestação com *M*.

javanica, sendo que os demais apresentaram menor número de folhas. Quanto aos TQ, TC, TP, TT e AZ as maiores médias foram verificadas sobre infestação de *M. javanica* e *M. incognita*. Para Solaris foi observado que os tratamentos CO, BS e AZ as maiores médias se deu sobre infestação de *M. javanica*, enquanto a utilização de TQ e TC observou maior redução no número de folhas com a espécie *M. enterolobii*.

Tabela 3 – Desdobramento significativo entre espécie de *Meloidogyne* e agentes de controle biológico para número de folhas (NF), altura da parte aérea (APA) e diâmetro do caule (DC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes biológicos de controle para *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*. Alta Floresta - MT, 2019.

| incognita, e M | <i>1. enterolobii.</i> Alta F | loresta - MT | T, 2019. | 1 | <u> </u> | , , , | | |
|----------------|-------------------------------|---------------------|----------------|------------------------|----------|--------------|--|--|
| | N | Aediterrânea | ı | | Solaris | | | |
| | | | Número de f | Número de folhas (uni) | | | | |
| AC | Mj | Mi | Me | Mj | Mi | Me | | |
| CO | 24,00 aA | 20,63 bA | 19,25 bA | 17,50 aB | 15,63 bA | 14,25 bA | | |
| TQ | 20,00 aB | 21,25 aA | 15,75 bB | 16,38 aB | 17,00 aA | 11,63 bB | | |
| TC | 23,00 aA | 20,25 aA | 17,00 bA | 17,00 aB | 16,25 aA | 12,25 bB | | |
| TP | 19,75 aB | 20,13 aA | 15,75 bB | 16,3 aB | 13,88 aB | 15,63 aA | | |
| TT | 22,00 aB | 19,25 aA | 14,88 bB | 16,38 aB | 16,63 aA | 14,88 aA | | |
| BS | 24,50 aA | 19,25 bA | 20,13 bA | 20,6 aA | 12,25 bB | 14,75 bA | | |
| \mathbf{AZ} | 21,88 aB | 19,00 aA | 11,38 bC | 18,50 aA | 15,50 bA | 14,1 bA | | |
| | | | Altura da part | e aérea (cm) | | | | |
| | Mj | Mi | Me | Mj | Mi | Me | | |
| CO | 23,21 aB | 24,75 aB | 24,50 aA | 25,75 aA | 27,05 aA | 24,06 aA | | |
| TQ | 24,94 aB | 27,63 aA | 20,81 bB | 25,00 aA | 25,09 aA | 23,9 aA | | |
| TC | 28,00 aA | 26,06 aA | 22,81 bA | 25,69 aA | 26,13 aA | 20,3 bA | | |
| TP | 23,69 bB | 28,19 aA | 24,44 bA | 23,94 aA | 17,56 bB | 23,19 aA | | |
| TT | 27,88 aA | 27,20 aA | 22,63 bA | 26,50 aA | 19,50 bB | 21,18 bA | | |
| BS | 26,44 aA | 22,88 aB | 24,00 aA | 27,31 aA | 20,63 bB | 22,38 bA | | |
| \mathbf{AZ} | 22,94 aB | 25,00 aB | 17,38 bB | 25,06 aA | 22,88 aA | 22,19 aA | | |
| | | | Diâmetro do | caule (mm) | | | | |
| | Mj | Mi | Me | Mj | Mi | Me | | |
| CO | 19,39 aA | 15,07 bB | 14,81 bA | 14,97 aA | 13,21 aB | 13,71 aA | | |
| TQ | 15,90 aB | 17,58 aA | 14,59 aA | 14,06 aA | 14,72 aA | 12,10 bB | | |
| TC | 15,52 aB | 15,23 aB | 14,77 aA | 14,64 aA | 14,75 aA | 11,78 bB | | |
| TP | 13,41 bC | 18,07 aA | 12,70 bB | 14,75 aA | 11,89 bB | 14,33 aA | | |
| TT | 16,75 aB | 14,70 aB | 15,47 aA | 13,95 aA | 14,15 aA | 12,51 aB | | |
| BS | 18,36 aA | 15,29 bB | 16,64 bA | 14,91 aA | 12,33 aB | 13,72 aA | | |
| AZ | 16,81 aB | 15,31 aB | 13,24 bB | 15,18 aA | 14,77 aA | 14,24 aA | | |
| | | | | | | | | |

Obs: Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. Tratamento sem agente de controle (CO), três isolados de *Trichoderma atroviride* obtidos em quiabo (TQ), couve (TC), e *Pleurotus pulmonarius* (TP), *T. viride* (TT), *Bacillus subtilis* (BS), *Azospirillum brasilense* (AZ). *M. javanica* (Mj), *M. incognita* (Mi), *M. enterolobii* (ME). Agentes de controle biológico (AC).

© 2022 Journal of Biotechnology and Biodiversity

ISSN: 2179-4804

Em relação a espécies de *Meloidogyne* dentro de agentes de controle biológico para número de folhas (Tabela 3), a cultivar Mediterrânea sobre ação de *M. javanica* e *M. enterolobii* com a aplicação de TC e BS foi semelhante ao tratamento sem agente biológico de controle (CO), quanto aos demais inferiores. Para *M. incógnita* foi observada que não houve diferenças entre os tratamentos. Para Solaris quando infestado por *M. javanica* os tratamentos BS (17,51%) e AZ (5,71%) composto por bactéria, contribuíram para o aumento de folhas. Para *M. incógnita* observou que TP e BS foram inferiores CO, e os demais semelhantes a esta. Quanto a *M enterolobii*, TP, TT, BS e AZ não diferiram de CO, e os demais inferiores.

Além das diferentes patogenicidades entre as espécies de *Meloidogynes*, observasse que entre os microrganismos utilizados também pode variar os resultados conforme a cultivar de alface, fato que pode estar ocorrendo pelo modo de ação de cada um sobre os fitonematoides. De acordo com Pinheiro et al. (2013) várias cultivares de alface normalmente apresentam suscetibilidade a nematoides, e este grau de suscetibilidade vai depender da espécie e raças biológicas que estão presentes na infecção das plantas, o que pode vir causar grandes redução na produção da alface.

A perda de produtividade pode ser observada no presente estudo com a redução do número de folhas que variou entre os fitonematoides, em destaque a patogenicidade do *M. enterolobii*. Estudos realizado por Wilcken et al., (2005) também demostraram a suscetibilidade da cultura da alfaces sobre os patogenicidade das espécies de nematoides *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, e constataram que para *M. javanica* as alfaces foram 100% tolerante, quanto a *M. incognita* foi de 95%, enquanto *M. enterolobii* apresentou 50%, o que demostra maior agressividade dessa espécie de fitonematoide para a cultura dessa hortalicia.

Para a variável altura total da parte aérea, comparamos os agentes de controle biológico dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 3), a cultivar Mediterrânea nos tratamentos CO e BS não ocorreu diferenças entre os fitonematoides, enquanto AZ (17,38 cm), TQ (20,81 cm), TT (22,63 cm), e TC (22,81 cm) sobre infestação por M. enterolobii observo as menores plantas. Para TP (28,19 cm) a infestação por *M. incognita* ocorreram maiores plantas. Em relação a Solares não houve diferenças entre os fitonematoides para os tratamentos CO, TQ e AZ. Para BS (27,31 cm) e TT (26,50 cm) as maiores plantas foi sobre infestação de *M. javanica*. Enquanto TP (17,56 cm) sobre infestação de M. incognita verificou a menor altura de alface.

Ao avaliar a espécies de *Meloidogyne* dentro de agentes de controle biológico para altura total da parte aérea (Tabela 3), cultivar Mediterrânea quando infestada por M. javanica a tratadas TC (20,64%), TT (20,12%) e BS (19,92%), foram superiores ao tratamento sem agente de controle (CO). Quando *M. incognita*, as maiores alfaces foram observadas quando aplicados TP (13,90%), TQ (11,63%), TT (9,90%) e TC (5,30%), superior a CO. Já para a espécie M. enterolobii os tratamentos TP, BS, TC e TT não diferenciaram de CO, e foram superiores à TQ e AZ. Para Solaris a infestado de M. javanica e M. enterolobii não foi observado diferença entre os tratamentos. Já M. incógnita verificou que TQ, TC e AZ foi semelhante a CO, enquanto TP, TT e BS foram inferiores.

Os microrganismos utilizados nos tratamentos TQ, TC, TP e TT pertence ao gênero *Trichoderma*, contribuíram para o aumento do aporte da alface para a cultivar Mediterrânea sobre a infestação das espécies *M. javanica* e *M. incognita*. Corroborando com os resultados obtidos neste ensaio Sharon et al. (2001), demostrou que a associação entre plantas e fungos antagonista do gênero Trichoderma spp. contra infestação de M. javanica. A ação promissora de controle pode ter sido devido a ação atividade antifúngicas através de enzimas extracelulares, tais como quitinase e protease, essas enzimas oxidantes vem a interferir na integridade da parede de ovos e juvenis de nematoides (Kavino et al., 2010).

Em relação aos tratamentos TQ, TC e TP, que são isolados locais, demostraram variação de resposta apesar de se tratar da mesma espécie *T. atroviride*, segundo Hoyos-Carvajal et al. (2009) a produção de metabólitos pelos microrganismos em geral é uma característica de cepas específicas, assim, varia muito. A utilização do gênero *Trichoderma* como agentes de controle biológico vem se mostrado promissores para plantas parasitas por nematóides, e o seu modo de ação é atribuído à alteração de exsudatos de raízes, parasitismo de ovos e juvenis, estímulo ao desenvolvimento vegetativo e indução de resistência em plantas (Toninato et al., 2019).

O diâmetro do caule quanto agentes biológicas de controle dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 3), para a cultivar Mediterrânea observa-se que não ocorreu diferença entre as espécies de fitonematoides quando tratada por TQ, TC e TT. Enquanto, que CO (19,39 mm) e BS (18,36 mm) a ação de *M. javanica* se mostrou menos prejudicial com maior diâmetro, e para TP (18,07 mm) o aumento foi verificado sobre a ação de *M. incognita*. Já para AZ (13,24 mm) houve a maior redução do diâmetro com a infestação de *M.*

enterolobii. Para a cultivar Solaris observou que as três espécies de fitonematoides se diferenciaram quando aplicado TQ, TC e TT, sendo que para TQ (12,10 mm) e TC (11,78 mm) as menores médias de diâmetro foram verificado para a espécie *M. enterolobii*, e para TP (11,89 mm) foi *M. incógnita*. Nota-se que a espécie *M. javanica* apresentou menor agressividade, independentemente dos microrganismos testados.

Avaliando as espécies de *Meloidogyne* dentro de agentes de controle biológico, a cultivar Mediterrânea quando infestada por M. javanica observa que a aplicação de BS foi semelhante a CO, quanto aos demais tratamentos contribuíram para a redução do diâmetro do caule. Para M. incógnita a aplicação de TP (19,91%) e TQ (16,66%) contribuíram para o aumento do diâmetro em relação a CO, e os demais foram inferiores. Já M. enterolobii a aplicação de TP e AZ foram inferiores aos demais que assemelharam a CO. A cultivar Solaris o diâmetro do caule sobre infestação de *M*. javanica todos os tratamentos utilizados se equipararam, apresentando respostas semelhantes a CO. Em relação M. incognita os tratamentos AZ (11,81%), TC (11,66%), TT (7,12%) e TQ (6,51%), se apresentaram superiores CO, e quando infestada por M. enterolobii, os tratamentos TP, BS e AZ foram semelhantes a CO, e inferior aos demais.

Cultivares de alface infestadas por *Meloidogyne* spp. tendem reduzir o diâmetro do caule com o aumentado da população do fitonematoide

(Mendonçaa et al., 2016). Os valores obtidos para o diâmetro do caule enfatizam a variação no potencial de cada um dos microrganismos estudados, independente dos fitonematoides, podendo deixar claro que o fato de um tratamento apresentar controle para uma espécie de *Meloidogyne* estudado, não necessariamente detém um potencial positivo para o efetivo controle do outro.

Entre os fitonematoides testados *M. incognita* foi o único que teve efeito notadamente pronunciado no aumento do diâmetro do caule para ambas cultivares, quando aplicados os tratamentos AZ, TQ, TC, TP e TP. A maior parte dos tratamentos que influenciaram no aumento do diâmetro do caule, foram constituído por *T. atroviride*. Efeito positivo para o aumento do diâmetro utilizando produto à base do fungo *T. harzianum* para a cultura da alface também foi verificado por Mendonça et al. (2016).

Como pode se observar no quadro de análise de variância para área foliar (AF), massa fresca total e comercial da parte aérea (MFT e MFC) (Tabela 4), foi observado que as cultivares Mediterrânea e Solaris apresentaram diferença significativa entre os fatores individuais, e interação entre as espécies de *Meloidogyne* e agentes de controle biológico. Somente para a cultivar Solaris, o fator agentes de controle biológico não foi verificada diferença significativas para MFT.

Tabela 4 - Resumo da análise de variância (Valor de F) e coeficiente de variação (CV) para área foliar (AF), Massa fresca total da parte aérea (MFT) e Massa fresca comercial da parte aérea (MFC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle biológico para *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*. Alta Floresta – MT, 2019.

| | | Mediterrânea | | Solaris | | | |
|------------------|---------|--------------|---------|---------|---------|---------|--|
| Fontes de Varia- | AF | MFT | MFC | AF | MFT | MFC | |
| ção | (mm²) | (g) | (g) | (mm²) | (g) | (g) | |
| M | 30,41** | 36,26** | 31,49** | 86,82** | 24,95** | 29,52** | |
| AC | 19,45** | 8,78** | 8,46** | 26,37** | 0,89 ns | 3,90** | |
| $M \times AC$ | 19,66** | 4,11** | 3,89** | 41,25** | 3,73** | 5,96** | |
| CV (%) | 18,19 | 26,13 | 27,63 | 14,73 | 29,18 | 26,26 | |

Obs: **, * e ns correspondem respectivamente a significativo a 1%, 5% e não significativo pelo teste de Scott-Knott. Espécie de *Meloidogyne* (M); Agentes de controle biológico (AC).

Na Tabela 5 estão apresentados os desdobramentos da interação significativa entre espécies de *Meloidogyne* e agentes de controle para

área foliar (AF), massa fresca total e comercial da parte aérea (MFT e MFC).

Tabela 5 - Desdobramento significativo entre espécies de *Meloidogyne* e agentes biológicos de Controle para área foliar (AF), Massa fresca total da parte aérea (MFT) e Massa fresca comercial da parte aérea (MFC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle biológico para o controle de *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*. Alta Floresta - MT, 2019.

© 2022 Journal of Biotechnology and Biodiversity

ISSN: 2179-4804

| | | Mediterrânea | | | Solaris | | | | |
|----|---|--------------|--------------------|--------------------|------------|------------|--|--|--|
| • | | | Área foli | ar (mm²) | | | | | |
| AC | Mj | Mi | Me | Mj | Mi | Me | | | |
| CO | 1391,71 aA | 1489,42 aA | 1444,64 aA | 1263,99 aB | 635,77 bD | 1176,74 aA | | | |
| TQ | 1651,88 aA | 1533,55 aA | 546,32 bC | 867,91 bD | 1531,36 aB | 654,69 cB | | | |
| TC | 1480,22 aA | 1633,66 aA | 1461,21 aA | 1322,81 aB | 1416,93 aB | 790,28 bB | | | |
| TP | 1514,91 aA | 1627,42 aA | 536,88 bC | 1059,06 aC | 440,40 bE | 1195,53 aA | | | |
| TT | 1387,50 aA | 659,97 bB | 1204,50 aB | 1202,12 bB | 1446,97 aB | 494,47 cC | | | |
| BS | 1595,79 aA | 1488,41 aA | 1596,36 aA | 1467,73 bA | 1738,76 aA | 1089,89 cA | | | |
| ΑZ | 1338,23 aA | 587,99 bB | 1134,76 aB | 1329,35 aB | 1261,97 aC | 651,86 bB | | | |
| | | | Massa fresca total | da parte aérea (g) | | | | | |
| • | Mj | Mi | Me | Mj | Mi | Me | | | |
| CO | 133,44 aA | 105,09 bA | 99,31 bA | 114,12 aA | 65,78 bB | 82,04 bA | | | |
| TQ | 118,54 aA | 117,91 aA | 59,64 bC | 89,23 aA | 105,90 aA | 50,71 bB | | | |
| TC | 118,10 aA | 109,13 aA | 82,62 bB | 100,01 aA | 107,49 aA | 67,50 bA | | | |
| TP | 94,15 aA | 114,25 aA | 49,86 bC | 92,29 aA | 56,08 bB | 87,35 aA | | | |
| TT | 109,97 aA | 69,42 bB | 81,00 bB | 102,72 aA | 98,55 aA | 54,55 bB | | | |
| BS | 130,52 aA | 94,11 bA | 116,19 aA | 109,40 aA | 83,35 bA | 71,59 aA | | | |
| ΑZ | 107,97 aA | 68,21 bB | 40,99 cC | 112,38 aA | 91,31 bA | 71,03 bA | | | |
| | Massa fresca comercial da parte aérea (g) | | | | | | | | |
| • | Mj | Mi | Me | Mj | Mi | Me | | | |
| CO | 118,40 aA | 94,20 bA | 92,21 bA | 87,9 aA | 72,55 aC | 56,90 bA | | | |
| TQ | 106,83 aA | 107,31 aA | 55,35 bB | 76,34 aA | 90,09 aB | 44,17 bB | | | |
| ГC | 95,49 aA | 99,18 aA | 72,73 bB | 85,95 aA | 95,51 aB | 47,80 bA | | | |
| TP | 87,62 aA | 105,90 aA | 44,75 bC | 79,43 aA | 47,80 bC | 74,72 aA | | | |
| TT | 98,17 aA | 61,50 bB | 65,17 bB | 90,27 aA | 87,96 aB | 47,73 bB | | | |

Obs: Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. Tratamento sem agente de controle (CO), três isolados de *Trichoderma atroviride* obtidos em quiabo (TQ), couve (TC), e *Pleurotus pulmonarius* (TP), *T. viride* (TT), *Bacillus subtilis* (BS), *Azospirillum brasilense* (AZ). *M. javanica* (Mj), *M. incognita* (Mi), *M. enterolobii* (Me).

90,58 bA

96,77 aA

86,37 bA

35,06 cC

Para área foliar, considerando o efeito dos agentes biológicas de controle dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 5), pode-se observar para a cultivar Mediterrânea as menores áreas se deram quando aplicado TQ (546,21 mm²) e TP (536,88 mm²) sobre infestado de *M. enterolobii*, e para TT (659,97 mm²) e AZ (587,99 mm²) para infestação *M. incognita*. Para Solaris os tratamentos BS

105,00 aA

60,44 bB

(1738,76 mm²), TQ (1531,36 mm²), TC TT (1446,97 mm²) e (1416,93 mm²), observa maiores áreas sobre infestação *M. incognita*, e para CO (1202,12 mm²) e TP (1195,53 mm²) o aumento foi sobre a infestação de *M. javanica* e *M. enterolobii*, respectivamente. Já a aplicação de AZ o aumento da área foliar se deu para *M. javanica* (1329,35 mm²) e *M. incognita* (1195,53 mm²).

122,59 aA

81,34 aB

© 2022 Journal of Biotechnology and Biodiversity

115,72 aA

96,08 aA

ISSN: 2179-4804

BS

AZ

DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v10n2.domingues

62,9 cA

30,25 bA

Em relação as espécies de *Meloidogyne* dentro de agentes de controle biológico (Tabela 5), para a cultivar Mediterrânea nota-se que *M. javanica*, *M. incognita* e *M. incognita* os tratamentos não diferiram do tratamento sem agente de controle (CO). Para Solares somente BS contribuiu para o aumento da área foliar, sobre infestação de *M. javanica* e *M. incognita*, contribuindo com aumento de 16,12 e 173,49%, respectivamente.

A utilização de *Bacillus subtilis* mostrou promissor para as cultivares de alface Solaris, pois este microrganismo contribuiu com o aumento do número de folhas, principalmente quando infestada por *M. javanica*, o que teve correlação para o aumento da área foliar, tanto para *M. javanica* quanto *M. incognita*. Os bons resultados de *B. subtilis* podem estar relacionado ao fato de que enzimas específicas, como quitinases, glucanases, proteases e lipases que algumas rizobactérias e bactérias endofíticas são capazes de sintetizar podem interferir na integridade da parede de fungos e de nematoides juvenis e ovos de nematoides (Lima et al., 2001; Kavino et al., 2010).

A massa fresca total e comercial da parte aérea para a cultivar Mediterrânea quando avaliado agentes biológicas de controle dentro de espécies de Meloidogyne (Tabela 5), para a cultivar Mediterrânea nota-se diferença estatística para todos os agentes de controle biológico utilizados, sendo que a infestada de M. javanica ocorreram maior massa quando tratadas por CO, TT BS e AZ, quando comparado aos demais fitopatógenos. Para TQ, TC e AZ entre os fitonematoides a ação de M. enterolobii foi mais agressiva, proporcionado menores massas em relação a outras duas. Para as espécies de Meloidogyne dentro de agentes de controle biológico, verifica-se que massa fresca total e comercial da nota-se que M. javanica, M. incognita M. incognita nenhum dos e microrganismos diferiram do tratamento sem agente de controle (CO).

Para a cultivar Solares massa fresca total quando avaliado agentes biológicas de controle dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 5), observou que para todos os tratamentos ocorreu diferença estatística entre os fitonematoides, em que a utilização de CO, TT, TP, BS e AZ sobre a infestação de *M. javanica* foi a menos danosa, proporcionando maior massa. Para TQ e TC maiores massas se deu para infestado de *M. incognita*. Quanto a massa fresca comercial observa que as maiores peso de massa se deu com a utilização de CO, TQ, TC e TT sobre as espécies *M. javanica* e *M. incognita*. Para BS o aumento da massa se deu sobre infestado de *M. incognita*, e TP para *M. javanica* e *M. enterolobii*.

Em relação as espécies de Meloidogyne dentro

de agentes de controle biológico, a cultivar Solares para massa fresca total e comercial não observou diferença entre os microrganismos sobre a infestação de *M. javanica* e *M. enterolobii*. Enquanto *M. incognita* a utilização de TC (63,41%), TQ (60,99%), TT (49,82%), AZ (38,81%) e BS (26,71%) proporcionaram massa fresca total superior a testemunha C0 e TP. Para massa fresca comercial a aplicação de BS (68,97%) foi superior a CO, e todos os demais microrganismos proporcionando maior massa.

Quanto a cultivar Solaris que se apresentou mais suscetível a ação das espécies de *Meloidogyne* testada em comparação a Mediterrânea, o aumento da massa fresca comercial foi destaque com a utilização de *B. subtilis* em relação a infestação de *M. incognita*, sendo que esse resultado benéfico pode ter ocorrido não apenas pela ação do controle direto do patógeno, mas sim pela capacidade de multiplicação e formação de biofilmes, em função da produção e acúmulo de polissacarídeos, que levam a formação de uma mucilagem protetora (Mattei et al., 2017).

Esses polissacarídeos extracelulares, com carga ou neutros, não só permitem a adesão da célula à superfície, mas também atuam como sistemas trocadores de íons, para captura e concentração de nutrientes da água (Kasnowski et al., 2001). Essa mucilagem, além de proteger o sistema radicular da planta, também serve de nutriente para a planta, e esse processo de colonização e multiplicação do microrganismo benéfico se dá de maneira rápida, o que pode ser vantajoso para a cultura da alface, em que a fase vegetativa dura aproximadamente 35 dias.

Fernandes et al. (2014), avaliando *M. javanica* e *M. incognita* utilizando como controle aplicação de *B. subtilis* em tomateiro, observaram sobre ação de *M. javanica* houve maior aumento de massa da parte aérea e raiz quando comparado a testemunha, enquanto *M. incognita* os resultados foram semelhantes a testemunha, corroborando com o presente ensaio.

Para todas as variáveis percebe-se complexidade do uso de agentes biológicos para a ação de fitonematoides, onde se tem certa especificidade dos microrganismos determinada espécie de nematoide, destacando-se e TC. Em relação as espécies aos fitonematoides destaca-se o ataque agressivo de *M*. enterolobii o qual sempre apresentou a menor médias para as características apresentadas ou não diferiu da menor.

Além da patogenicidade especifica por espécie de fitonematoides (Pereira et al., 2013), a baixa eficiência dos agentes de controle no presente ensaio, pode ser devido ao curto período de tempo para o estabelecimento dos microrganismos no solo para que haja maior colonização dos ovos do patógeno (Lopes et al, 2007), sendo está uma das dificuldade do uso de microrganismos para o controle de fitonematoides a cultura da alface em apenas um ciclo devido a sua curta duração. Mafessoni et al. (2019), avaliando solos de cultivo de tomate na presença de infestado por Meloidogyne spp., observaram que a aplicação de T. longibrachiatum, T. harzianum e Pochonia chlamydosporia, quanto mais tempo contato/reinoculação desses microrganismos, ocorreu aumento no controle das formas juvenis de *Meloidogyne* spp.

No geral, alguns microrganismos utilizados no presente ensaio como agentes de controle biológico demostraram serem promissores para a cultivar Mediterrânea, entretanto, a tolerância que esta cultivar possui, pode ter dado maior capacidade de suporte de campo quando submetida a ação de M. javanica, M. incognita, e M. enterolobii, possibilitando bons resultados para a testemunha sem agente de controle. Por isso se faz importante à utilização de cultivares tolerantes, quando disponíveis, pois a tolerância a patógenos constitui uma prática de grande relevância para o manejo de nematoides na cultura da alface. Além da capacidade de reduzir a população do nematoide, a tolerância de materiais genéticos à patógenos não apresenta riscos à saúde humana evitando assim o possível uso de produtos químicos por parte dos produtores (Pinheiro et al., 2013).

O uso de métodos alternativos de controle biológico para a cultura da alface se faz necessário, mesmo que haja cultivares tolerantes, pois tem a finalidade de minimizar os prejuízos ocasionados por fitonematoides, isto porque o controle tradicional com rotação de cultura não tem se mostrado uma tarefa fácil devido a ampla gama de hospedeiros.

A forma como agem os microrganismos utilizados como controle biológico são importantes para a cultura da alface, uma vez que não há controle químico para os fitonematoides para estar cultura de ciclo rápido, e também, o químico propicia uma proteção temporária, após a qual a população de nematoides pode voltar a atingir altos níveis, já a associação das plantas com microrganismos do solo apresenta importância na natureza por favorecer a sobrevivência das plantas, sua biodiversidade e funcionalidade do ecossistema (Zamioudis e Pieterse, 2012).

CONCLUSÕES

A utilização dos microrganismos avaliados, em destaque *B. subtilis* e *T. atroviride* mostraram

promissores para o controle das espécies de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. enterolobii* para a cultivar Solaris, seguida por Mediterrânea.

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado de Mato Grosso (Unemat), ao Laboratório de Nematologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV), e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado do primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas AC, Mafia RG. Métodos em fitopatologia. Viçosa: Ed. UFV. 382p. 2007.
- Araújo SC. Realidade e perspectivas para o uso de *Azospi-rillum* na cultura do milho. Piracicaba: IPNI International Plant Nutrition Institute Brazil. 32p. 2008.
- Carneiro RMDG, Carneiro RG, Abrantes IMO, Santos MSNA, Almeida MRA. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knott nematode parasitizing coffee in Brazil. Journal of Nematology, v.28, n.2, p.177, 1996.
- Cayrol JC, Ritter M. Donnés recentes sur l'utilization de champignons du sol comme antagonistes de nématodes. Société Française de Parasitologie, v.2, sn, p.53-56, 1984.
- Coolen WA, D'Herde CJ. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Belgium: State Agricultural Research Centre, Ghent, 77p. 1972.
- Favarato LF, Guarçoi RC, Siqueira AP. Produção de alface de primavera/verão sob diferentes sistemas de cultivo. Revista Científica Intelletto, v.2, n.1, p.16-28, 2017.
- Fernandes RH, Vieira BS, Fuga CAG, Lopes EA. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. Bioscience Journal, v.30, n.1, p.194-200, 2014.
- Ferraz LCCB. Métodos alternativos de controle de nematóides. Informe Agropecuário, v.16, n.172, p.23-26. 1992.
- Ferraz LCCB, Brown DJF. (Orgs.). Nematologia de plantas: fundamentos e importância. Manaus: Norma Editora, 267p. 2016.
- Ferreira DF. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011. https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001
- Fiorini CVA, Gomes LAA, Maluf WR, Fiorini IVA, Duarte RPF, Licursi V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. Horticultura Brasileira, v.23, n.2, p.299-302, 2005.

https://doi.org/10.1590/S0102-05362005000200027

Handoo ZA, Golden AM. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus filipjev*, (lesion

- nematodes). Journal of Nematology, v.21, n.2, p.202, 1989.
- Hoyos-Carvajal L, Orduz S, Bissett J. Growth stimulation in bean (Phaseolus vulgaris L.) by *Trichoderma*. Biological Control, v.51, n.3, p.409-416, 2009. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.07.018
- Kasnowski MC, Mantilla SPS, Oliveira LAT, Franco RM. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, v.8, n.15, p.1-23, 2010.
- Kavino M, Sankarasubramanian H, Kumar N, Aravanakumar D, Saiyappan R. Induction of systemic resistance in banana (*Musa* spp.) against Banana bunchy top virus (BBTV) by combining chitin with root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0. European Journal of Plant Pathology, v.120, n.sn, p.353-362, 2008. https://doi.org/10.1007/s10658-007-9223-8
- Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM. Free-living bacterial inocula forenhancing crop productivity. Trends in Biotechnology, v.7, n.2, p.39-43, 1999. https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7
- Lima UA, Aquarone E, Borzani W, Schimidell W. Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos, v.3, Edgard Blücher: São Paulo, 593p. 2001.
- Lopes EA, Ferraz S, Ferreira PA, Freitas LG, Dhingra OD, Gardiano CG, Carvalho SL. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. Nematologia Brasileira, v.31, n.2, p.78-84, 2007.
- Machado ACZ, Kaneko L, Pinto ZV. Controle Biológico. In: BELOTG, R.; BELOT, J. L. Cuiabá: Instituto Mato-grossense do Algodão IMAmt, Boletim de P&D. p.295-296. 2016.
- Machado DFM, Parzianello FR, Silva ACF, Antoniolli ZI. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. Revista de Ciências Agrárias, v.35, n.1, p.274-288, 2012. https://doi.org/10.19084/rca.16182
- Machado V, Berlitz DL, Matsumura ATS, Santin RMS, Guimarães A, Da Silva ME, Fiuza LM. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. Oecologia Australis, v.16, n.2, p.165-182, 2012. https://dx.doi.org/10.4257/oeco.2012.1602.02
- Mafessoni AB, Bahia BL, Souza IVB, Da Silva RF, Rebouças TNH, Porto JS. Fungos antagonistas e suas combinações contra *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro. Acta Biológica Catarinense, v.6, n.3, p.54-60, 2019.
- Malavolta E. Manual de química agrícola: adubos e adubação. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 594p. 1981.
- Mattei D, Henkemeier NP, Heling AL, Lorenzetti E, Kuhn OJ, Stangarlin JR. Produtos fitossanitários biológicos disponíveis para agricultura e perspectivas de novos produtos. In: Zambom MA, Kuhn OJ, Silva NLS, Stangarlin JR, Nunes RV, Fulber VM, Eyng C. Ciências agrárias: ética do cuidado, legislação e tecnologia na agropecuária. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, p.124-154, 2017.
- Oliveira CMG, Kubo RK, Rosa JMO. Nematóide. In: Chaves, A.L.R. (org.). Aspectos Fitossanitários da Cultura da Alface. São Paulo: Instituto Biológico, 126p. 2017.

- Pereira RB, Pinheiro JB, Carvalho ADF. Diagnose e controle alternativo de doenças em alface, alho, cebola e Brássicas. Brasília: Embrapa Hortaliças. 16p. (Circular Técnica. Embrapa Hortaliças, 120). 2013.
- Pinheiro JB, Da Silva GO, Pereira RB. Nematoides na cultura da batata. Embrapa Hortaliças. 12p. (Embrapa Hortaliça. Circular Técnica, 143), 2015.
- Pinheiro JB, Pereira RB, Carvalho ADF, Rodrigues CS, Suinaga FA. Manejo de nematoides na cultura da alface. Embrapa Hortaliça, Brasília. 7p. (Embrapa Hortaliça. Comunicado técnico, 124), 2013.
- Mendonçaa LLR, Alvesa FR, do Nascimento Chagasb É, de Resende Camaraa G, da Silvaa, GA, de Jesus Jr, WC, Moraesa WB. Management of *Meloidogyne javanica* with biological pesticides and oils in a lettuce field. Nematoda, v.3, p.1-9, 2016. http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.01515
- Santos HS, Scapim CA, Maciel SL, Vida JB, Schwan-Estrada KRF, Brandão Filho JUT. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em alface em função do tamanho de células de bandeja e idade de transplante das mudas. Acta Scientiarum Agronomy, v.28, n.2, p.253-259, 2006.
- Scurrah ML, Niere B, Bridge J. Nematodes Parasites of Solanum and Sweet Potatoes. In: Luc M, Sikora RA, Bridge, J. (eds). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2 ed. Oxfordshire: CABI, p.193-219, 2005.
- Sharon B, 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, v.91, sn, p.687-693, 2001.
- Silva FCDS. (Ed.). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes (Vol. 627). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 627p. 2009.
- Stirling GR. Biological control of plant parasitic nematodes. Wallingford, CABI Publishing, 282 p. 1991.
- Tihohod, D. Nematologia Agrícola Aplicada. Jaboticabal: FUNEP, 372p., 1993.
- Toninato BO, Souza DHG, Pontalti PR, Lopes APM.; Dias-Arieira CR. *Meloidogyne javanica* control in lettuce with fertilizers applied isolated or associated with biological product. Horticultura Brasileira, v.37, p.384-389, 2019.
- Wiethan MMS. Vermicompostagem e desenvolvimento inicial de alface em doses superiores de *Trichoderma*. Universidade Federal de Santa Maria. 53p., 2015.
- Wilcken SRS, Garcia MGM, Silva N. Resistência de alface tipo Americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. Nematologia Brasileira, v.29, n.2, p.267-271, 2005.
- Zamioudis C, Pieterse CMJ. Modulation of host immunity by beneficial microbes. Molecular Plant-Microbe Interactions, v.25, n.2, p.139–50, 2012.

© 2022 Journal of Biotechnology and Biodiversity

ISSN: 2179-4804