



EFEITO DO CULTIVO DA *Crotalaria spectabilis* E *Brachiaria decumbens* SOBRE A EFICIÊNCIA DO FUNGO *Trichoderma asperellum* EM CONTROLAR O NEMATOIDE DAS GALHAS NO TOMATEIRO

COUTINHO, Késia Vanessa Soares¹;

SENA, Silvanir de Brito² ;

COIMBRA, João Luiz³;

SANTOS, Jessica da Mata dos ;

MILLER, Luciane de Oliveira

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das plantas de cobertura *Crotalaria spectabilis* Rothe e *Brachiaria decumbens* Stapf, sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide *M. incognita* no tomateiro. O experimento foi montado em delineamento experimental tipo inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e oito repetições. Ambas as espécies de plantas aumentaram a eficiência do *T. asperellum* em controlar o *M. incognita* no tomateiro reduzindo significativamente os números de galhas e ovos do nematoides nas raízes da planta.

Palavras-Chave: Plantas de cobertura, controle biológico, fungos nematófagos, nematoides

EFFECT OF *Crotalaria spectabilis* AND *Brachiaria decumbens* CULTIVATION ON THE EFFICIENCY OF THE FUNGUS *Trichoderma asperellum* IN CONTROLLING THE ROOT KNOT NEMATODES IN TOMATO

ABSTRACT: This work aimed to evaluate the effect of *Crotalaria spectabilis* Rothe and *Brachiaria decumbens* Stapf plants on the efficiency of the fungus *Trichoderma asperellum* in controlling the nematode *M. incognita* in tomato. The experiment was set up in a completely randomized experimental design, with four treatments and eight replications. Both plant species increased the efficiency of *T. asperellum* in controlling *M. incognita* in tomato, significantly reducing the numbers of galls and nematode eggs on the roots of the plant.

Keywords: Cover crops, biological control, nematophagous fungi, nematodes

¹ Discente do Curso de Engenharia Agrônômica da Universidade do Estado da Bahia – UNEB Campus IX, Barreiras-BA e-mail: coutinhokesia@hotmail.com

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

2 Discente do Curso de Engenharia Agrônoma da Universidade do Estado da Bahia – UNEB Campus IX, Barreiras-BA e-mail: sill162010@hotmail.com

3 Professor Doutor Titular da Universidade do estado da Bahia – UNEB-Campus IX- Barreiras; e-mail: jcoimbra@uneb.br

4 Eng Agrônoma, Mestre e Doutora em Fitopatologia, Gerente de Pesquisa e Desenvolvimento da JCO Produtos nematologiajco@jcofertilizantes.com.br

5 – Eng. Agrônoma, Mestre em Agricultura de Precisão, Diretora Técnica da JCO Bioprodutos lucianeom@jcofertilizantes.com.br

1 INTRODUÇÃO

Das doenças da cultura do tomateiro, as causadas pelo parasitismo de nematoides das galhas, gênero *Meloidogyne*, é umas das mais limitantes a planta, prejudicando de forma significativa o seu desenvolvimento vegetativo. Esse nematoide causa a formação de nódulos no sistema radicular das plantas afetando a absorção de água e nutriente, fazendo com que ocorra redução no desenvolvimento da parte aérea da planta, além de torná-las mais vulneráveis ao ataque de patógenos, principalmente de solo (CARVALHO, 2017). Dentre as inúmeras espécies do nematoide das galhas o *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) é uma das mais disseminadas em áreas de cultivo de tomateiros (GONÇALVES, L.A 2014).

O manejo do nematoide-das-galhas engloba várias estratégias como o uso de nematicidas químicos, resistências genéticas, rotação de cultura, controle biológico, entre outros. A utilização de nematicida é o mais usual, no entanto devido aos impactos ambientais gerados, riscos da presença de resíduos nos

alimentos e preço elevados, o seu uso vem sendo restringido ao longo do tempo. O uso de cultivares resistentes, por sua vez, em alguns casos são inviáveis devido às mudanças nas qualidades agrônomicas, levando a menor aceitação do consumidor. Com isso, novas alternativas, como o uso de controle biológico vem ganhando destaque nos últimos anos (ALVES, 2016).

O emprego de microrganismos biocontroladores de nematoides como o fungo *Trichoderma* spp, conhecido pela sua capacidade de controlar nematoide das galhas, e em promover o desenvolvimento vegetativo de plantas, vem sendo bastante empregado no campo (Affokpon al, 1995; Al-Hazmi e Tariqjaveed 2016). No entanto, estratégias que busquem permitir um melhor estabelecimento do *Trichoderma* spp e a sua multiplicação no solo são importantes, uma vez que refletirão numa maior eficiência controle dos nematoides. Algumas plantas empregadas no controle do nematoide das galhas podem favorecer o aumento da atividade de fungos benéficos no solo, devido ao fornecimento expressivo de

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

volumes de matéria orgânica oriundo da exsudação radicular. Plantas como a crotalária, conhecida como planta armadilha e amplamente empregada no manejo de nematoides, já teve sua capacidade comprovada em estimular o crescimento microbiano no solo de alguns microrganismos (FILHO e CARDOSO, 2000). Considerando a eficácia do fungo

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e as avaliações realizadas no laboratório Fitopatologia, ambos pertencentes à Universidade do Estado da Bahia – UNEB, *Campus IX*, localizada no município de Barreiras - BA, situada à 12° 8' 54'' Sul e 44° 59' 33'' Oeste. O delineamento experimental utilizado foi o tipo inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e oito repetições totalizando 32 parcelas experimentais

2.3 Multiplicação do nematoide *M. incognita* e obtenção dos ovos para montagem do experimento

A população inicial de *M. incognita* foi obtida de raízes de tomateiro da cultivar Santa Cruz Kada infectada com nematoide e mantidas em casa de vegetação. Para a obtenção dos ovos do nematoide, as raízes

Trichoderma em controlar o nematoide de galhas e o potencial das plantas antagonista sem estimular sua multiplicação no solo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das plantas *C. spectabilis* e *B. decumbens*, sobre a eficiência do fungo *T. asperellum* em reduzir o parasitismo do nematoide *M. incognita* no tomateiro.

do tomateiro foram retiradas cuidadosamente dos vasos, imersas em um balde com água para eliminar o excesso de solo, e em seguida processadas seguindo a metodologia descrita por Hussey e Barker (1973), modificada por Bonetti e Ferraz (1981), no qual as raízes foram trituradas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante 30 segundos. Logo após essa operação, a suspensão de ovos foi vertida em peneiras sobrepostas de 200 e 400 mesh, recolhida da peneira de 400 mesh e quantificado o número de ovos em Lâmina de Peters sob microscópio óptico.

2.4 Infestação do substrato com *Trichoderma asperellum* e montagem do experimento

O fungo *T. asperellum* foi fornecido pela JCO Fertilizantes e multiplicado em placas de Petri com o meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar) mantidos em câmara

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

de incubação BOD (Biology oxygen demand) a 25°C, durante 15 dias. Após este período, no interior de uma câmara de fluxo laminar e com auxílio de um tubo de ferro, foram retirados 5 discos de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro das colônias de *T. asperellum* e transferidos para frascos de vidro tipo Erlenmeyer, contendo 20 gramas de arroz pré-cozido. Após essa operação, os frascos foram transferidos para câmara de incubação (BOD) e mantidos a 25 °C por 7 dias (Muniz et al., 2018).

As sementes de *C. spectabilis* e *B. decumbens*, usadas como plantas de cobertura, foram semeadas em sacos plásticos contendo substrato composto por areia, solo e composto orgânico na proporção de (1:1:1) sendo previamente esterilizados. Vinte dias após a germinação das plantas foi realizada a infestação do substrato com o *T. asperellum* através da introdução de nove grãos de arroz pré-colonizados com o fungo, obtidos conforme descrição anterior, no substrato de cada saco. Sessenta e cinco dias após a semeadura das plantas de cobertura as plantas de cobertura foram retiradas cuidadosamente do substrato e no lugar foi transplantado uma muda de tomateiro da cultivar Santa Cruz Kada com 30 dias de

idade. Dois dias após o transplante do tomateiro foi realizada a infestação do solo com 5000 ovos do nematoide *M. incognita*, obtidos utilizando-se a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981) conforme descrito anteriormente. Para fazer a infestação do substrato foram realizados dois orifícios com bastão de vidro ao redor do tomateiro e adicionado uma suspensão contendo 5000 do nematoide.

O experimento foi avaliado sessenta dias após a infestação do substrato com o nematoide. Para isso, as plantas de tomateiro foram retiradas cuidadosamente do substrato e cortadas na altura do coleto para separar a parte aérea das raízes. As raízes foram lavadas e pesadas numa balança eletrônica sendo em seguida quantificado o número de galhas com o auxílio de um contador manual de células e um microscópio estereoscópico. Após a contagem das galhas foi feita a extração de ovos de nematoides utilizando a técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981) e contagem dos ovos com auxílio de microscópio óptico. A altura da parte aérea das plantas, foi medida com uma régua graduada em seguida à parte aérea das plantas foram acondicionadas em sacos de papel e submetidas à temperatura

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

de 65° C em estufa de circulação de ar por 72 horas para a determinação da massa seca.

2.5 Análise dos resultados

Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas através do teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa de análises estatísticas ASSISTAT versão 7.7 (SILVA e AZEVEDO, 2009)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A associação de *C. spectabilis* e *T. asperellum* foi que apresentou maior redução significativa ($P \leq 0,05$) no número de galhas e ovos por grama de raiz, seguido do tratamento *B. decumbens* + *T. asperellum*, quando comparado com a testemunha (Tabela 1). Porém, a associação do fungo *T. asperellum* com a Crotalária foi que realmente reduziu a população do nematoide no solo, com o fator de reprodução menor que 1 ($FR < 1$), comprovando o efeito positivo da integração de manejo cultural com o biológico na redução populacional do nematoide. Microrganismos benéficos, incluindo aqueles com atividade antagonista contra nematoides, a exemplo do *T. asperellum* podem ser favorecidos

pelos compostos orgânicos exsudados pelas plantas de cobertura, podendo competir por nutrientes com os nematoides, limitando seu crescimento. Logo, o cultivo da *C. spectabilis* no solo previamente a sua utilização para o plantio de tomateiros, certamente permitiu a exsudação de desses compostos orgânicos que ali permaneceram, e vieram a atuar como estimulantes da atividade microbiana do *T. asperellum* na rizosfera do tomateiro.

Por outro lado, as crotalárias são conhecidas por produzir compostos químicos chamados alcaloides, e estes apresentam propriedades nematicidas, o que significa que são tóxicos para os nematoides. A presença desses alcaloides no substrato onde foi feito o plantio do tomateiro e inoculado os nematoides, pode ter afeta negativamente a sobrevivência e reprodução dos nematoides, contribuindo para a redução de sua população. Além dessa ação nematicida direta, esses alcaloides também podem ter um efeito nematostático, reduzindo a capacidade dos nematoides de se proliferar no solo e atacar as raízes das plantas hospedeiras, justificando o seu baixo fator de reprodução.

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

A testemunha e o uso do fungo *T. asperellum* sem a presença de plantas de cobertura nos parâmetros, ovos por grama de raiz e fator de reprodução não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1). Sena, Coimbra e Coutinho (2022) ao usarem a planta forrageira

Stylosanthes guianensis junto com a aplicação do *T. asperellum* também observaram a redução significativa do parasitismo do nematoide *M. incognita* nas raízes do tomateiro que mostra o potencial desta estratégia para potencializar o controle biológico exercido pelo fungo no solo.

Tabela 1: Efeito do uso de plantas de cobertura e *T. asperellum* sobre a altura da parte aérea, matéria seca, galhas e ovos por grama de raiz e fator de reprodução no tomateiro inoculado com *M. incognita*.

Tratamentos	Altura da parte aérea (cm)	Matéria seca (g)	Galhas/g de raiz	Ovos/g de raiz	FR
Testemunha	78,75 a	14,09	38,29 d	1467,09 c	13,96 c
<i>Trichoderma</i>	80,37 a	17,39	31,05 c	1436,64 c	13,18 c
<i>Brachiaria</i> + <i>Trichoderma</i>	76,75 a	14,99	23,16 b	1272,44 b	4,45 b
<i>Crotalaria</i> + <i>Trichoderma</i>	70,62 a	14,97	12,13 a	197,15 a	0,78 a
CV(%)	11,91	9,71	15,75	8,79	15,54

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados do autor (2023)

A natureza nutricional dos exsudatos radiculares das raízes da crotalaria e da braquiária pode ter influenciado na eficiência do fungo *T. asperellum* em controlar o nematoide das galhas. As plantas liberam exsudatos radiculares que desempenham papéis importantes na interação planta-microrganismo através da liberação de compostos orgânicos que estimulam a ação microbiana. Essa exsudação da raiz permite

selecionar os microrganismos na rizosfera para seu próprio benefício como é o caso dos microrganismos que irão atuar sobre os patogênicos de solo (Zhou et al., 2019). O uso de braquiária e aplicação de *Trichoderma harzianum*, em um trabalho realizado por Görden et al., (2008) aumentou a eficiência do controle biológico, uma vez que essa interação possibilitou a colonização de 97% escleródios presentes no solo. Aziz et al.,

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

(1997) avaliando a influência de exsudatos de raízes em mudas de feijão constataram que os tratamentos que tiveram a aplicação de *Trichoderma lignorum* em solo rizosférico reduziram significativamente a densidade populacional de *Rhizoctonia solani* presente no solo quando comparado com solo não rizosférico. A ação antagônica de alguns microrganismos contra fitopatógenos é decorrente de exsudatos liberados pelas plantas que permitem a proliferação de microrganismos antagônicos ao longo da rizosfera, uma vez que os exsudatos são considerados fonte de carbono e energia para os microrganismos, levando a competição por nutriente e controle biológico de patógeno (AZIZ *et al.*, 1997).

O uso de plantas de cobertura produtora de compostos nematicidas auxilia no controle da população de nematoides, sendo assim considerado como uma das principais alternativas no manejo de fitonematoides, pois além de reduzir os patógenos, estimula a atividade microbiana do solo através da produção de exsudatos (COLTRO-RONCATO, 2015).

Não foi observado diferença significativa entre os tratamentos em relação a altura do tomateiro (Tabela 2).

Apenas a aplicação do *T. asperellum* sem a presença de planta de cobertura, apresentou aumento significativo no acúmulo de massa seca .

O cultivo de *C. spectabilis* e da *B. decumbens* em associação a aplicação do *T. asperellum* potencializou a redução do parasitismo do nematoide *M. incognita* no tomateiro causada pelo fungo, no entanto, trabalhos precisam serem realizados a nível de campo bem como testar outras plantas que podem serem usadas como cobertura em sistemas de plantio direto ou como adubo verde.

94 CONCLUSÃO

O cultivo da *C. spectabilis* e *B. decumbens* junto com aplicação do *T. asperellum* potencializou o controle biológico exercido pelo fungo ao nematoide das galhas, sendo uma boa opção para o manejo em áreas infestadas pelo patógeno.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aziz, N. H., El-Fouly, M. Z., El-Essawy, A. A., & Khalaf, M. A. **Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia***

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

- solani*. Botanical Bulletin of Academia Sinica, v.38, p.33-39, 1997.
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. **Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato**. Saudi Journal of Biological Sciences, v.23, p. 288–292, 2016.
- AFFOKPON, A.; COYNE, D. L.; HTAY C. C.; AGBÈDÈ R. D. **Biocontrol potential of native *Trichoderma* isolates against root-knot nematodes in West African vegetable**. ALEF, K. Soil respiration. In: ALEF, K.; NANNIPIERI Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London; San Diego: Academic Press, Soil Biology & Biochemistry, v.43, 225-227, 1995
- ALVES, P. S. **Compatibilidade entre *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma spp.* no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa Minas Gerais – Brasil 2016.
- BONETI, J.I.; FERRAZ, S. **Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro**. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA, XIV, Porto Alegre, RS. Fitopatologia Brasileira, 1981.
- CARVALHO, P. H. **Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro**. 2017. 98f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2017
- COLTRO-RONCATO, S.; GONÇALVES, E. D. V. FORLIN, O. D.; STANGARLIM, J. R. **Fitoquímicos como controle alternativo de nematoides**. In: KUHN et al. Ciências agrárias: tecnologias e perspectivas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2015. 360p
- FILHO, A. C.; CARDOSO, E. J. B. N. **Deteção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, p.2033- 2042, 2000.
- GONÇALVES, L.A. **Levantamento de nematoides fitoparasitas em áreas cultivadas com olerícolas na região centro oeste do estado de São Paulo**. 2014. 58f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, Unesp, Botucatu SP, 2014.
- GÖRGEN, A.C.; CIVARDI, E.; PERRETO, E.; CARNEIRO, L.C.; SILVEIRA NETO, A.N.; RAGAGNIN, V.;

Efeito do cultivo da *Crotalaria spectabilis* e *Brachiaria decumbens* sobre a eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro

- LOBO JUNIOR, M. **Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* com o manejo de *Brachiaria ruziziensis* e aplicação de *Trichoderma harzianum*.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2008. 4p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 81).
- HUSSEY RS, BARKER KR (1973) **A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique.** Plant Disease Reporter, v.57, p.1025-1028, 1973.
- MUNIZ, P. H. P. C.; PEIXOTO, G. H. S.; TEIXEIRA, M. P. M.; MELLO, S. C. M.; CARVALHO, D. D. C. **Produção de conídios em substrato sólido e colonização superficial por *Trichoderma harzianum*.** Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS, v. 5, n. 4, p. 40-44, 2018. SENA, S.B; COUTINHO, K.V.S.; COIMBRA, J.L. **Eficiência do fungo *Trichoderma asperellum* em controlar o nematoide das galhas no tomateiro após o cultivo de *Stylosanthes guianensis*.** In: 74ª Reunião Anual da SBPC, 2022, Brasília. Anais de evento, 2022.
- SILVA, F.A.S, AZEVEDO, C.A.V. **Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance.** In: Word Congress on Computers in Agriculture, 7., 2009, Reno. Proceedings... Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- ZHOU, X. G.; WANG, J.; JIN, X.; LI, D.L.; SHI, Y. J.; WU, F. Z. **Effects of selected cucumber root exudates components on soil *Trichoderma* spp. communities.** International. Allelopathy Journal, v.47, n.2, p.257-266, 2019.