



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

**AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DE *Trichoderma* NA PROMOÇÃO DE
CRESCIMENTO DE RAÍZES DE TOMATEIRO E NO CONTROLE
DE *Meloidogyne enterolobii***

SHEILA FREITAS DE ALMEIDA

**BRASÍLIA-DF
2020**

SHEILA FREITAS DE ALMEIDA

AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DE *Trichoderma* NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE RAÍZES DE TOMATEIRO E NO CONTROLE DE *Meloidogyne enterolobii*

Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial a obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Sueli Corrêa Marques de Mello
Coorientadora: Dr^a. Regina Maria Dechechi G. Carneiro

BRASÍLIA-DF
2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Almeida, Sheila Freitas de

Avaliação de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento de raízes de tomateiro e no controle de *Meloidogyne enterolobii*.

Brasília, 2020. Número de páginas p.: 103 il

Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

1. Fitopatologia – Controle biológico de nematoides

I- Universidade de Brasília. PPG/FIT

II- Avaliação de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento de raízes de tomateiro e no controle de *Meloidogyne enterolobii*.

A Deus, minha família, amigos e colaboradores.

DEDICO

“Dar-te-ei os tesouros escondidos e as riquezas encobertas, para que saibas que eu sou o senhor, o Deus de Israel, que te chama pelo teu nome”.

(Isaiás 45:3)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a vida e me presentear com um família linda, cercada de amor, carinho, respeito e proteção.

Ao meu pai Gerson, minha mãe Josilda, irmãs Keila e Leila, por todo apoio, incentivo e amor.

A Dra. Sueli, pela orientação, atenção, ensinamentos, apoio e fornecimento de subsídios necessários para a realização da minha pesquisa.

À Dra. Regina, pela coorientação, prestatividade, conselhos, incentivo e apoio ao meu trabalho.

À Irene Martins pelo auxílio na reativação das culturas de *Trichoderma*, ensinamentos, carinho fraternal, conselhos, paciência, auxílio, ensino e experiência compartilhada.

Ao Prof. Jansen Santos e ao Dr. Luis Palhares, pelas contribuições e sugestões preciosas, principalmente nas análises estatísticas dos dados obtidos neste trabalho e por estarem sempre dispostos a ajudar e esclarecer dúvidas.

Às companheiras do mestrado Paula Darliny, Adriana Andrade, Débora Gonçalves e Katia Campos, pela amizade, horas de estudo compartilhadas, soma de força e estímulo, palavras de incentivo e aprendizado.

Aos colegas e amigos de estágio no CENARGEN, Carlos Estevanato, Ana Luiza, Bruna e Rebeca, pela presteza, ensinamentos, auxílio na montagem e avaliação dos experimentos, essenciais para a concretização desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia no CENARGEN, Rejayne, Lincon, e Dra. Ana Beatriz, pela amizade, parceria, sorrisos compartilhados, força, aprendizados e ajuda em diversos momentos.

Ao Dr. João Batista Tavares por todos os ensinamentos e atenção, sempre disposto a compartilhar sua experiência da melhor forma possível.

Ao Dr. Marcos Faria, do laboratório de micologia de invertebrados no CENARGEN, pela presteza, auxílio e ensinamentos sobre formulação de produtos biológicos.

Aos colegas do Laboratório de Nematologia no CENARGEN Caio Augusto, Vanessa, Marcilene, Marcia, Raycene e William pela receptividade, ensinamentos, prestatividade, incentivo, amizade, momentos de espontaneidade, estímulo e ajuda.

À Daniela Aguiar do laboratório de micologia de invertebrados no CENARGEN, pelo ensino, orientações e sugestões nas montagens de ensaios *in vitro*.

À Ana Cristina, pelo auxílio prestado no Laboratório de Microscopia do CENARGEN.

Aos Professores, Juvenil, Adalberto Café, Cleber, Marisa, Rita, Helson, Cláudio, Danilo, Blum, Cláudio, e Maurício, pelo importante papel que desempenham no Programa de Pós-graduação em Fitopatologia na UnB.

Ao colega Gustavo Henrique, ao Alexandre e ao professor Danilo, pelas contribuições na identificação das linhagens fúngicas.

À UnB pelo apoio e ensino.

À CAPES pelo fornecimento de bolsa ao longo do mestrado.

Ao CENARGEN, pela infraestrutura, subsídios e apoio à pesquisa.

À FAPDF e ao CNPq pelo apoio financeiro ao Projeto.

Às empresas JCO Fertilizantes, Koppert e Laboratório Farroupilha, pela doação dos produtos comerciais incluídos nesta pesquisa.

Ao professor Juvenil, Dr. Jadir Pinheiro e Dr. Dilson Costa, que aceitaram compor a banca examinadora deste trabalho.

Muito obrigada a todos!

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação da Dr^a Sueli Corrêa Marques de Mello e coorientação da Dr^a Regina Maria Dechechi G. Carneiro, com apoio institucional e financeiro da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Avaliação de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento de raízes de tomateiro e no controle de *Meloidogyne enterolobii*.

SHEILA FREITAS DE ALMEIDA

DISSERTAÇÃO APROVADA em 20 / 03 / 2020 por:

Dr. Jadir Borges Pinheiro

Examinador Externo - Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças

Prof. Juvenil Enrique Cares

Examinador Interno – Universidade de Brasília

Dilson da Cunha Costa

Suplente – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Dr^a Sueli Corrêa Marques de Mello

Orientadora (Presidente da Banca) – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

BRASÍLIA, DF

2020

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	05
2.1 Objetivo geral.....	05
2.2 Objetivos específicos.....	05
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	06
3.1 Cultura do tomateiro.....	06
3.1.1 Origem e adaptação do tomateiro.....	06
3.1.2 Características botânicas.....	06
3.1.3 Importância nutricional, social e econômica.....	07
3.2 Nematóide das galhas <i>Meloidogyne spp</i>	09
3.2.1 Ciclo de vida de <i>Meloidogyne spp</i>	10
3.2.2 <i>Meloidogyne enterolobii</i> : Considerações gerais.....	13
3.3 Métodos de controle de fitonematóides.....	15
3.3.1 Controle biológico de fitonematóides.....	18
3.3.2 Gênero <i>Trichoderma</i> Persoon.....	22
3.3.2.1 <i>Trichoderma spp</i> . como agente de controle biológico de nematóides.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1 Área experimental.....	28
4.2 Inóculo de <i>Meloidogyne enterolobii</i>	28
4.2.1 Obtenção do inóculo de <i>Meloidogyne enterolobii</i> e multiplicação em tomateiros.....	28

4.2.2 Confirmação da espécie.....	29
4.3 Inóculos fúngicos.....	29
4.3.1 Linhagens de <i>Trichoderma</i> utilizadas.....	29
4.3.2 Identificação molecular de linhagens de linhagens de <i>Trichoderma</i>	30
4.3.3 Produção de inóculos fúngicos.....	31
4.4 Ensaios.....	32
4.4.1 Ação nematicida de linhagens de <i>Trichoderma</i> em casa de vegetação, no controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> em tomateiro.....	32
4.4.1.1 Primeiro ensaio: Verão/outono (Março a junho de 2019).....	33
4.4.1.2 Segundo ensaio: Primavera/verão (Setembro de 2019 a janeiro de 2020).....	35
4.4.2 Ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação.....	37
4.4.3 Ação <i>in vitro</i> de linhagens de <i>Trichoderma</i> sobre ovos e J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i>	38
4.4.4 Avaliação da habilidade de linhagens de <i>Trichoderma</i> na colonização da rizosfera de tomateiro.....	40
5. RESULTADOS.....	43
5.1 Ação nematicida de linhagens de <i>Trichoderma</i> em casa de vegetação, no controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> no tomateiro.....	43
5.1.1 Primeiro ensaios: Verão/outono (Março a junho de 2019).....	43
5.1.2 Segundo ensaio: Primavera/verão (Setembro de 2019 a janeiro de 2020).....	46
5.2 Ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação.....	51
5.3 Ação <i>in vitro</i> de linhagens de <i>Trichoderma</i> sobre ovos e J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i>	52
5.4 Avaliação da habilidade de linhagens de <i>Trichoderma</i> na colonização da rizosfera de tomateiro.....	55
6. DISCUSSÃO.....	56
6.1 Ação nematicida de linhagens de <i>Trichoderma</i> em casa de vegetação, no controle de <i>Meloidogyne enterolobii</i> no tomateiro: Verão/outono e primavera/verão.....	56
6.2 Ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação.....	60

6.3 Ação <i>in vitro</i> de linhagens de <i>Trichoderma</i> sobre ovos e J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i>.....	61
6.4 Avaliação da habilidade de linhagens de <i>Trichoderma</i> na colonização da rizosfera de tomateiro.....	64
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
8. CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Linhagens de <i>Trichoderma</i> pertencentes à Coleção de Microrganismos para o Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas do CENARGEN e produtos comerciais à base de <i>Trichoderma</i>	30
Tabela 2. Avaliação de linhagens de <i>Trichoderma</i> (concentração $1,43 \times 10^6$ conídios/ml, 10 ml/vaso) na promoção de crescimento de tomateiros e reprodução de <i>Meloidogyne enterolobii</i> (FR), em casa de vegetação, três meses (março a junho de 2019) após a inoculação do nematoide.....	44
Tabela 3. Matriz de coeficientes de correlação linear de Pearson entre as variáveis altura da planta (APA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco da raiz (PFR), índice de galhas (IG) por <i>Meloidogyne enterolobii</i> , índice de massa de ovos (IMO), ovos/gama de raiz (NOG), total de ovos (TO) e fator de reprodução (FR).....	45
Tabela 4. Ação de linhagens de <i>Trichoderma</i> sobre a altura de plantas de tomate, em casa de vegetação, após 45 dias (64 dias de idade) da inoculação com <i>Meloidogyne enterolobii</i>	48
Tabela 5. Avaliação de linhagens de <i>Trichoderma</i> (concentração 1×10^8 conídios/ml, 10 ml/vaso) na promoção de crescimento de tomateiros e reprodução de <i>Meloidogyne enterolobii</i> (FR), em casa de vegetação, 110 dias (setembro de 2019 a janeiro de 2020) após a inoculação do nematoide....	49
Tabela 6. Matriz de coeficientes de correlação linear de Pearson entre as variáveis altura da planta (APA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco da raiz (PFR), índice de galhas (IG) por <i>Meloidogyne enterolobii</i> , índice de massa de ovos (IMO), ovos/gama de raiz (NOG), total de ovos (TO) e fator de reprodução (FR).....	50
Tabela 7. Avaliação de linhagens de <i>Trichoderma</i> quanto à promoção de crescimento de tomateiro, em casa de vegetação, 37 dias após a germinação.....	51
Tabela 8. Percentagem (%) de eclosão de J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i> após diferentes períodos de exposição (8, 16 e 21 dias) de ovos às linhagens de <i>Trichoderma</i>	52
Tabela 9. Percentagem (%) de parasitismo de linhagens de <i>Trichoderma</i> sobre ovos de <i>Meloidogyne enterolobii</i> , após diferentes períodos de exposição (8, 16 e 21 dias).	53
Tabela 10. Percentagem (%) de parasitismo de linhagens de <i>Trichoderma</i> sobre J2 de <i>Meloidogyne enterolobii</i> , após diferentes períodos de exposição (8, 16 e 21 dias)	54

Tabela 11. UFC⁻¹ g de solo seco aderido às raízes de tomateiro, 14 dias após a germinação das sementes e 23 dias após a inoculação com 5 ml de suspensões das linhagens de *Trichoderma*, à concentração de 1x 10⁸ esporos/ml.....55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ciclo de vida do nematoide das galhas em raízes do tomateiro. Fonte: Pereira, R. B. Adaptado de Agrios (2005).....11
- Figura 2.** *Trichoderma harzianum* KUC21203. (A- C) Conidióforo. (D) Conídios. Barra = 10µm. (E) Colônias em meios de cultura CMD (ágar - dextrose - farinha de milho); BDA (batata - dextrose - ágar) e SNA (ágar pobre em nutrientes sintéticos). Fonte: Jang *et al.*, (2018).22
- Figura 3.** Efeito de isolados de *Trichoderma* sobre ovos e formas juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne enterolobii*. (A) Parasitismo de *Trichoderma longibrachiatum* sobre ovo de *M. enterolobii*. (B) Enrolamento das hifas de *T. atroviride* sobre J2 de *M. enterolobii*. (C) Degradação da parede celular do ovo de *M. enterolobii* por *T. atroviride*. (D) Parasitismo de *T. brevicompactum* sobre ovo de *M. enterolobii*. (E) Colonização de ovo de *M. enterolobii* por *T. asperellum*. Escala de barras: A, C e D= 30µm, B= 70µm, E= 40µm. Fonte: Amaral *et al.*, (2018).25
- Figura 4.** Linhagens de *Trichoderma* pertencentes à Coleção de Microrganismos para o Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas do CENARGEN e produtos comerciais à base de *Trichoderma* aos oito dias de crescimento.....32
- Figura 5.** Tomateiros em casa de vegetação após 90 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*.....33
- Figura 6.** Raízes de tomateiros após 90 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*. (A) Raiz tratada com *Trichoderma afroharzianum* (CEN288). (B) Raiz tratada com produto comercial (*T. harzianum* - ESALQ 1306). (C) Raiz tratada com produto comercial (*T. asperellum* - SF 04).....34
- Figura 7.** Tomateiros em casa de vegetação após 110 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*.....36
- Figura 8.** Montagem e avaliação de ensaio *in vitro*. (A) Placas de Elisa incubadas sob condições controladas (25°C). (B) Lavagem de poços das placas para coleta de ovos e juvenis de *Meloidogyne enterolobii* após a inoculação com 100 µl da suspensão de ovos (cerca de 500 ovos) do nematoide e 150 µl de suspensão de esporos (1x10⁶ esporos/ml) de linhagens de *Trichoderma*.....39
- Figura 9.** Colônias de *Trichoderma* spp. recuperadas de solo da rizosfera de plântulas de tomate, crescidas em BOD por diferentes períodos (3 a 5 dias) a 25 °C. (A) *T. afroharzianum* (CEN287) aos 3 dias de crescimento. (B) *T. asperellum* comercial (SF 04) aos 5 dias de crescimento. (C) *T.*

asperelloides (CEN162) aos 3 dias de crescimento. (D) *T. asperelloides* (CEN162) aos 5 dias de crescimento.....41

Figura 10. Raízes de tomateiros após 110 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*. (A) Raiz tratada com produto comercial (*Trichoderma harzianum* - ESALQ 1306). (B) Raiz tratada com produto comercial (*T. asperellum* - SF 04).....47

Figura 11. Colonização por micélio da linhagem UFT 201 e degradação de ovo de *Meloidogyne enterolobii* após 16 dias de exposição em meio ágar-água (1,5%).....53

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

% - percentagem	EPPO - Organização Européia e Mediterrânea de Proteção de Plantas
°C - graus Celsius	FAO - Organização das Nações Unidas
cm - centímetro	FR - Fator de reprodução
g - grama	J1, J2, J3, J4 - estádios dos juvenis de <i>Meloidogyne</i> spp. (juvenil de primeiro, segundo, terceiro e quarto estágio, respectivamente)
l - litro	IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ml - mililitro	IG - Índice de galhas
µg - micrograma	IMO - Índice de massa de ovos
µl - microlitro	MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
µm - micrômetro	NaOCl - Hipoclorito de Sódio
mesh - número de aberturas por polegada linear	NOG - Ovos/grama de raiz
pH - potencial hidrogeniônico	PFR - Peso fresco de raiz
US\$ - dólar americano	PCR - Reação em cadeia da polimerase
R\$ - real (moeda brasileira)	PSPA - Peso seco de parte aérea
rpm - rotação por minuto	Rm - mobilidade relativa
v/v - volume por volume	SNA - ágar pobre em nutrientes sintéticos
ABRATOP - Associação Brasileira da Cadeia Produtiva de Tomate para o Processamento	SBN - Sociedade Brasileira de Nematologia
APA - Altura da planta	TO - Total de ovos
BDA - batata-dextrose- ágar	UFC - Unidade formadora de colônias
CMD – ágar - dextrose - farinha de milho	
BOD - Demanda Biológica de Oxigênio (estufa incubadora)	

RESUMO

ALMEIDA, Sheila Freitas de. **Avaliação de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento de raízes de tomateiro e no controle de *Meloidogyne enterolobii***. 2020. 103 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

O nematoide das galhas *Meloidogyne enterolobii* é um patógeno emergente no Brasil e considerado altamente destrutivo ao tomateiro. Devido à falta de cultivares resistentes a esse nematoide e à escassez de resultados de pesquisa envolvendo *Trichoderma* no controle desse patógeno, o objetivo deste trabalho foi avaliar linhagens de *Trichoderma* quanto à promoção de crescimento de raízes de tomateiro e redução de populações de *M. enterolobii*. A aplicação de CEN288, CEN289, CEN290, CEN316, CEN1153, CEN1399 e SF 04 (monospórico e formulado) e ESALQ 1306 (monospórico e formulado) à concentração de $1,43 \times 10^6$ conídios/ml aumentou significativamente o peso fresco de raízes em comparação com a testemunha inoculada com nematoides. Essas linhagens de *Trichoderma*, exceto CEN316, também promoveram aumento significativo do fator de reprodução (FR). Com o aumento da concentração de esporos (1×10^8 conídios/ml), a inoculação de nematoide ou de fungo e nematoide promoveu o aumento do peso fresco de raízes, exceto nos tratamentos CEN162, CEN287, UFT 201 e CEN287 + nematoides, os quais mantiveram o peso fresco de raízes igual ao da testemunha (sem inoculação). Nenhuma das concentrações ($1,43 \times 10^6$ e 1×10^8 /ml) de conídios de linhagens de *Trichoderma* influenciou sob a altura (90 e 45 dias após a inoculação de nematoide) e peso seco de parte aérea das plantas (90 e 110 dias da inoculação de nematoide), respectivamente. No entanto, verificou-se correlação positiva e significativa entre o FR e peso fresco de raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, ovos/gramas de raiz e total de ovos, nas duas doses utilizadas. No ensaio de promoção de crescimento, a maioria das linhagens testadas promoveu incremento significativo na altura das plantas aos 37 dias após a germinação, e também observou-se o aumento de peso fresco de raízes com as linhagens CEN162, CEN290, CEN1153, CEN1399, ESALQ 1306 (monospórica) e SF 04 (formulado). Nos ensaios *in vitro*, apenas a linhagem CEN287 promoveu inibição na eclosão de J2 aos 16 dias. Os produtos comerciais formulados UFT 201 e Mix destacaram-se por promover maior parasitismo de ovos aos 16 e 21 dias. Na análise de colonização do solo rizosférico de tomateiros detectou-se diferença estatística entre as linhagens testadas, em um dos experimentos realizados no mesmo período, no qual CEN162, CEN287 e a linhagem SF 04 (comercial) demonstraram maior habilidade em colonizar o solo rizosférico. Embora as linhagens de *Trichoderma* tenham demonstrado habilidade na colonização do solo rizosférico, promoção de crescimento de parte aérea no início do ciclo do tomateiro e estímulo ao desenvolvimento de raízes, os resultados deste estudo demonstraram baixa eficiência das linhagens de *Trichoderma* quanto à ação parasítica sobre ovos e J2, assim como na inibição de eclosão de J2 nos ensaios *in vitro*. Além disso, as linhagens não exerceram controle de *M. enterolobii* em casa de vegetação, nas duas doses utilizadas.

Palavras-chave: Controle biológico; manejo de doenças; *Solanum lycopersicum* L.

Orientadora – Dr^a Sueli Corrêa Marques de Mello EMBRAPA CENARGEN

Coorientadora – Dr^a Regina Maria Dechechi G. Carneiro - EMBRAPA CENARGEN

ABSTRACT

ALMEIDA, Sheila Freitas de. **Evaluation of *Trichoderma* strains in promoting the growth of tomato roots and in the control of *Meloidogyne enterolobii***. 2020. 103 p. Dissertation (Master's degree in Plant pathology) – University of Brasília, Brasília, DF, Brazil.

The root knot nematode *Meloidogyne enterolobii* is an emerging pathogen in Brazil and considered highly destructive to tomato. Due to lack of resistant cultivars to this nematode and scarcity of research results involving *Trichoderma* on the control of this pathogen, the objective of this work was to evaluate *Trichoderma* strains for the promotion of tomato root growth and reduction of populations *M. enterolobii*. The application of CEN288, CEN289, CEN290, CEN316, CEN1153, CEN1399 and SF 04 (monosporic and formulated), ESALQ 1306 (monosporic and formulated) at a concentration of $1,43 \times 10^6$ conidia/ml significantly increased the fresh weight of roots compared to witness inoculated with nematode. These *Trichoderma* strains, except CEN316, also promoted a significant increase in the reproduction factor (RF). With the increase in the concentration of spores (1×10^8 conidia/ml), the inoculation of nematode or fungi plus nematode promoted an increase in the fresh weight of roots, except in the treatments CEN162, CEN287, UFT 201 e CEN287 + nematoides, which maintained the fresh weight of roots equal to the control (without inoculation). None of the concentrations ($1,43 \times 10^6$ e 1×10^8 /ml) of conidia from *Trichoderma* strains influenced the height (45 and 90 days after nematode inoculation) and dry weight of the above ground part of the plants (90 and 110 days after nematode inoculation), respectively. However, there was a positive and significant correlation between RF and fresh root weight, gall index, egg mass index, eggs /grams of root and total eggs, in the two doses used. In the growth promotion assay, most of the tested strains promoted a significant increase in plant height at 37 days after germination, and an increase in fresh weight of roots was also observed with the strains CEN162, CEN 290, CEN1153, CEN1399, ESALQ 1306 (monosporic) and SF 04 (formulated). In in vitro assays, only the CEN287 strain inhibited J2 hatching at 16 days. The commercial products formulated UFT 201 and Mix stood out for promoting greater parasitism of eggs at 16 and 21 days. In the analysis of colonization of the rhizospheric soil of tomatoes, a statistical difference was detected between the strains tested, in one of the experiments carried out in the same period, in which CEN162, CEN287 and SF 04 (commercial) strain demonstrated greater ability to colonize the rhizospheric. Although the *Trichoderma* strains have demonstrated ability in colonizing rhizospheric soil, promoting shoot growth at the early plant growth and stimulating root development, the results of this study demonstrated low efficiency in *Trichoderma* strains with parasitic action on eggs and J2, as well as inhibition of J2 hatching in vitro assays. Furthermore, the strains did not result in control of *M. enterolobii* under greenhouse, in both doses used.

Keywords: Biological control; disease management; *Solanum lycopersicum* L.

Advisor – Dr^a Sueli Corrêa Marques de Mello EMBRAPA CENARGEN

Co-advisor – Dr^a Regina Maria Dechechi G. Carneiro - EMBRAPA CENARGEN

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas e consumidas no mundo, apresentando elevada importância socioeconômica e nutricional (Alvarenga, 2013). De acordo com dados da FAO (2016), essa olerícola ocupa o segundo lugar entre as demais, em produção mundial, atrás da batata (*Solanum tuberosum* L.). Dados do IBGE (2020), mostram que o Brasil produziu 4 milhões de toneladas de tomate no ano de 2019, sendo que essa produção se concentra principalmente nos estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais.

A cultura do tomateiro está sujeita ao ataque de diversos patógenos que podem limitar a produção e causar prejuízos econômicos. Entre os principais estão os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1887, conhecidos popularmente como nematoides das galhas (Pinheiro *et al.*, 2014). Esses podem ser responsáveis por perdas anuais estimadas em US\$ 157 bilhões, em termos mundiais (Abad *et al.*, 2008).

A meloidoginose é considerada uma das principais doenças causadas por nematoides na cultura do tomateiro, podendo inviabilizar áreas produtivas quando atinge altas infestações (Sikora & Fernandez, 2004), com perdas entre 14 e 44% da produção de frutos em sistema protegido (Charchar & Aragão, 2005). Em campo, os sintomas apresentam-se em reboleiras de formato irregular, com plantas raquíticas, murchas e amareladas (Pinheiro *et al.*, 2013). Plantas severamente atacadas por esse grupo de patógenos apresentam redução da parte aérea decorrente do volume radicular reduzido e o sistema vascular completamente desorganizado, devido à formação de galhas radiculares que afetam a absorção de água e nutrientes, bem como o transporte das raízes para a parte aérea das plantas (Pinheiro *et al.*, 2013). Além disso, plantas atacadas por nematoides tornam-se vulneráveis a outros patógenos, em especial a fungos e bactérias do solo (Asmus, 2001).

No Brasil, as duas espécies mais comuns de nematoides em tomateiros são *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949; ambas são cosmopolitas e possuem ampla gama de hospedeiros (Lopes & Reis, 2007). No entanto, a espécie *M. enterolobii* Yang & Eisenback, 1983 (sin: *M. mayaguensis*) vem causando problemas no Brasil e em outros países, em várias culturas, inclusive no tomateiro (Pinheiro *et al.*, 2014). Esta é uma das espécies agressivas e destrutivas (Silva *et al.*, 2017) dentro do gênero *Meloidogyne* (Rodriguez *et al.*, 2007). Plantas parasitadas por *M. enterolobii* apresentam galhas grandes e irregulares, que podem apodrecer rapidamente devido à invasão de patógenos secundários como *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Fusarium* sp., *Verticillium* sp. e *Ralstonia* sp. (Pinheiro *et al.*, 2014), sendo que a formação do grande número de galhas pode resultar na ausência ou diminuição de radículas (Silva *et al.*, 2014).

O controle de *M. enterolobii* é considerado difícil devido à habilidade que esse patógeno possui de suplantar mecanismos de resistência de seus hospedeiros, inclusive o tomateiro, e de infectar um grande número de espécies botânicas (Kiewnick *et al.*, 2009). Durante décadas o controle de *Meloidogyne* spp. tem sido baseado na aplicação de nematicidas químicos, uso de cultivares resistentes e rotação de culturas (Li *et al.*, 2015). Os nematicidas químicos, no entanto, apresentam limitações, pelo seu alto custo e toxicidade, apresentando riscos a organismos não alvos e ao meio ambiente de maneira geral.

O uso de cultivares resistentes é o método mais recomendado para o controle de nematoides, por não aumentar os custos de produção e não interferir no meio ambiente (Davis & Stetina, 2016). No Brasil, há cultivares de tomateiros ou porta-enxertos portadores do gene *Mi* que confere resistência às meloidoginoses (Carneiro *et al.*, 2006). Todavia, poucas espécies do gênero são capazes de superar a resistência conferida pelo gene *Mi*, a exemplo de *M. enterolobii* que, além disso, apresenta alta taxa de reprodução e ampla gama de hospedeiros (Kiewnick *et al.*, 2009).

O controle de *M. enterolobii* é problemático sobretudo no tomateiro, porque as condições de temperatura e umidade na cultura favorecerem a rápida multiplicação desse organismo (Pinheiro *et al.*, 2014). Tendo em vista que é impossível a eliminação total desses patógenos em áreas infestadas, tornou-se então uma preocupação mundial a busca por opções de controle (Ferraz & Freitas, 2004), que possibilitem manter as populações de nematoides abaixo dos níveis de dano. Nesse contexto, destaca-se o controle biológico entre as diversas medidas de manejo das meloidoginoses, por constituir uma abordagem econômica e ecologicamente correta (Li *et al.*, 2015).

Fungos do gênero *Trichoderma* (Persoon, 1794) Rifai, 1969 têm sido amplamente estudados como agentes de biocontrole de diversos patógenos, inclusive nematoides (Mohamed & Haggag, 2006; Fortes *et al.*, 2007; Affokpon *et al.*, 2011). A atividade bionematicida de *Trichoderma* tem sido investigada contra o nematoides das galhas em tomateiro, e resultados demonstram a redução da população de juvenis de segundo estágio (J2), ovos e galhas (Affokpon *et al.*, 2011).

A colonização de raízes de tomateiros por duas linhagens de *T. harzianum* Rifai, 1969 reduziram consistentemente o desenvolvimento e a reprodução de *M. incognita* (Leonetti *et al.*, 2017). Zhang e colaboradores (2017) ao pesquisarem a ação de *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, 1969 sobre o controle do nematoide *Heterodera avenae* Wollenweber, 1924 em trigo, demonstraram que ao aumentar a concentração de conídios houve aumento na taxa de parasitismo em ovos e juvenis, refletindo em maior inibição da eclosão e mortalidade de juvenis.

Apesar de pesquisas com microorganismos antagonistas e a grande disponibilidade de produtos biológicos no mercado, os resultados até o momento não são conclusivos. Resultados satisfatórios com fungos do gênero *Trichoderma* no controle de nematoides poderão ser obtidos a partir da avaliação de novas linhagens ainda não exploradas, possibilitando a

descoberta de novos agentes com potencial para o controle biológico desses patógenos.

As pesquisas realizadas até o momento limitam-se à busca por opções de controle das espécies *M. incognita* e *M. javanica*. Contudo, a espécie *M. enterolobii* é um patógeno emergente em diversos estados brasileiros, considerado virulento aos híbridos de tomateiro existentes no mercado. O presente estudo foi proposto visando à prospecção de linhagens de *Trichoderma* com potencial para o controle biológico de *M. enterolobii* na cultura do tomateiro. A hipótese é que existe na coleção do CENARGEN isolados de *Trichoderma*, que podem atuar como agentes de biocontrole, promovendo a redução das populações de *M. enterolobii* e/ou atuando na promoção de crescimento do tomateiro.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar linhagens de *Trichoderma* com potencial para promoção de crescimento do tomateiro e para o biocontrole de *M. enterolobii*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a ação nematicida de linhagens de *Trichoderma* em ensaios em casa-de-vegetação, no controle de *M. enterolobii*.
- Avaliar a habilidade de linhagens de *Trichoderma* na promoção de crescimento (desenvolvimento de raízes e parte aérea) do tomateiro.
- Avaliar a ação das linhagens de *Trichoderma* selecionadas *in vitro* sobre ovos e juvenis de *M. enterolobii*.
- Avaliar linhagens de *Trichoderma* quanto à habilidade na colonização do solo rizosférico cultivado com tomateiro cv. Santa Clara.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cultura do tomateiro

3.1.1 Origem e adaptação do tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) pertence à classe Dicotyledoneae, ordem Tubiflorae, família Solanaceae e gênero *Solanum* L. (Alvarenga, 2004). É uma planta cultivada, cosmopolita (Filgueira, 2008), que possui como centro de origem o continente Sul-americano, ao longo da Cordilheira dos Andes do Peru, Bolívia e Equador (Espinoza, 1991; Embrapa, 1993). O tomateiro foi domesticado no México, local considerado seu centro de origem secundário (Naika *et al.*, 2006). Com a chegada dos espanhóis às Américas, o tomate foi levado para a Europa no séc. XVI e inicialmente cultivado como planta ornamental em jardins da Espanha, Itália e Inglaterra. Posteriormente, difundiu-se por todo o mundo, sendo introduzido no Brasil por imigrantes europeus no final do século XIX (Alvarenga, 2004). A adaptação mundial do tomateiro está relacionada à tolerância a diferentes condições edafoclimáticas. Temperaturas variando entre 5 e 36 °C possibilitam o desenvolvimento da planta que, entretanto, expressa melhor seu potencial produtivo entre 13 e 28 °C (Filgueira, 2008).

3.1.2 Características botânicas

O tomateiro é constituído por raízes, haste central, frutos, folhas e flores (Vigilato, 1988). É uma solanácea herbácea, com caule flexível, incapaz de suportar o peso dos frutos e manter a posição vertical (Filgueira, 2008). Apresenta sistema radicular pivotante, composto por uma raiz principal, raízes secundárias e adventícias. A maior parte das raízes concentra-se na faixa de solo de até 20 cm de profundidade (Mattedi *et al.*, 2007). A planta caracteriza-se por apresentar fruto carnoso, composto por epicarpo (pele) e polpa, que por sua vez, se constitui

de mesocarpo, endocarpo e semente (Vigilato, 1988). Os frutos são ricos em vitamina C, pró-vitamina A (beta caroteno) e antioxidantes (licopeno e outros carotenoides), importantes à saúde humana (Reifschneider *et al.*, 2014). A primeira colheita dos frutos pode ser realizada 45-55 dias após a floração ou 90-120 dias após a sementeira (Naika *et al.*, 2006).

Embora seja uma planta perene, o tomateiro comporta-se como anual da sementeira até a produção de novas sementes, com ciclo variando de 4 a 7 meses, incluindo-se 1-3 meses de colheita quando cultivado em casa de vegetação, podendo o seu ciclo e a colheita serem prolongados (Figueira, 2007). O hábito de crescimento da planta pode ser determinado ou indeterminado. Cultivares com hábito indeterminado podem atingir até 2,5 m de altura e apresentam grande quantidade de folhas, que se sobrepõem aos frutos. Estas variedades deverão ser suportadas com estacas, de modo a possibilitar o aumento da ventilação e a iluminação, facilitar a colheita e os tratamentos culturais como a poda (Silva & Giordano, 2000; Alvarenga, 2004).

3.1.3 Importância nutricional, social e econômica

O tomate é uma hortaliça amplamente consumida *in natura*, principalmente em saladas (Luz *et al.*, 2007). Entretanto, pode também ter sua polpa transformada para consumo posterior, na forma de extratos, polpas, molhos e conservas (Souza *et al.*, 2012). Por ser um alimento funcional, com altos teores de vitaminas (A e C), licopeno, sais minerais (fósforo, potássio, cálcio e magnésio) e ácidos nutricionais (ácido acético, ácido lático e ácido málico), a crescente busca por alimentos mais saudáveis vem contribuindo para o fortalecimento do mercado de tomates, tanto *in natura* quanto industrializados (Carvalho & Pagliuca, 2007; Monteiro *et al.*, 2008). Desta forma, a cultura é reconhecida como poderosa fonte geradora de empregos diretos e indiretos, colaborando para a geração de renda em todos os segmentos de sua cadeia produtiva (Silva & Giordano, 2000).

Os países com maior produção de tomate no mundo são Estados Unidos, China, Itália, Espanha e Turquia (Carvalho *et al.*, 2016). O Brasil ocupa a oitava posição, de acordo com a lista da WPTC (Conselho Mundial de Processamento de tomate), gerando receita aproximada de R\$ 3,2 bilhões ao ano (Carvalho *et al.*, 2016). Os principais setores de produção no Brasil são o de tomate para mesa e o de tomate para indústria, sendo que o “estaqueado” é mais utilizado de forma *in natura* e o “rasteiro” no processamento industrial para a produção de molhos e extratos (IBGE, 2018).

O tomate de mesa ou para consumo *in natura* é produzido em quase as todas as regiões do Brasil e em épocas distintas sob diferentes sistemas de cultivo e diferentes níveis de manejo cultural (Matos *et al.*, 2012). A maioria das cultivares pertencentes a esse segmento possui hábito de crescimento indeterminado, razão da necessidade de tutorar sua haste ou caule herbáceo na medida em que a planta se desenvolve (Matos *et al.*, 2012). Já o tomate para fins industriais não necessita de tutoramento (Clemente *et al.*, 2020).

Dados da ABRATOP (Associação Brasileira da Cadeia Produtiva do Tomate para Processamento) mostram que a indústria brasileira destina 65% do produto para fabricação de molhos, 21% para catchup, 8% para polpas e 6% para extrato (Carvalho *et al.*, 2016). Considerando o mercado de sementes, o tomate representa 25% do comércio de sementes de hortaliças, o que corresponde a R\$ 200 milhões de faturamento para as empresas envolvidas (Carvalho *et al.*, 2016).

Apesar da sua importância o cultivo de tomate é considerado atividade difícil de ser realizada, devido ao ataque de pragas e doenças. A análise fitossanitária de uma área cultivada com tomateiro deve contemplar todas as possíveis causas e fatores limitantes à produção, de modo que, se diagnosticada a presença de patógenos, é necessário identificar as espécies, o nível populacional e a capacidade dessas espécies encontradas em causar prejuízo ao produtor de tomate (Zambolim *et al.*, 2000). A adoção de técnicas adequadas de manejo da cultura é

uma das formas de melhorar a qualidade e aparência do tomate (Marim *et al.*, 2005), favorecer o aumento da produtividade e evitar prejuízos econômicos.

3.2 Nematóide das galhas *Meloidogyne* spp.

Os nematoides são organismos pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, ovíparos, dioicos (machos e fêmeas), com sistemas digestivo e reprodutivo completos, sendo encontrados na água, solo, matéria orgânica em decomposição, se alimentando de organismos como bactérias, fungos, nematoides e, parasitando plantas (fitoparasitas) e animais (zooparasitas) (Cares *et al.*, 2012).

Os nematoides parasitas de plantas são patógenos devastadores que infectam a maioria das espécies vegetais cultivadas (Barbosa *et al.*, 2018). Possuem aproximadamente 4100 espécies (Decraemer & Hunt, 2006), são parasitas obrigatórios e apresentam estilete no aparelho bucal (Cares *et al.*, 2012). Causam distúrbios do sistema radicular, induzindo a formação de alterações morfológicas e fisiológicas, prejudicando a absorção e translocação de nutrientes e água (Hunt & Handoo, 2009). Provoca perdas na produção agrícola mundial consideráveis entre US\$ 100 bilhões e US\$ 157 bilhões (Singh *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2018), e de R\$ 16,2 bilhões no Brasil (SBN, 2017).

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. são considerados os mais importantes para a agricultura no mundo, seguido de *Heterodera* spp. e *Globodera* spp (Jones *et al.*, 2013). Sua importância já havia sido considerada por Sasser (1980) como um dos maiores obstáculos à produção de alimentos. Infectam uma ampla variedade de culturas em todas as regiões agrícolas do mundo e causam perdas significativas de rendimento e qualidade dos produtos (Trudgill & Blok, 2001). Pertencem ao Filo Nematoda (Maggenti, 1981), classe Chromadorea, ordem Rhabditida, Subordem Tylenchina, Infraordem Tylenchomorpha, Superfamília Tylenchoidea e Família Meloidogynidae Skarbilovich, 159 (Karssen & Moens, 2006).

Os nematoides das galhas são endoparasitas sedentários e estão entre os patógenos a vegetais mais bem-sucedidos na natureza (Hussey & Janssen, 2002). O gênero possui aproximadamente 100 espécies conhecidas (Jones *et al.*, 2013), são cosmopolitas, polífagos (Ravichandra, 2014) e possuem dimorfismo sexual, caracterizado pela presença de fêmeas obesas e machos vermiformes (Castagnone-Sereno *et al.*, 2013). Disseminam-se através de órgãos atacados (raízes, bulbos, tubérculos e rizomas), mudas infectadas, solo aderente a ferramentas e máquinas agrícolas, água de irrigação, entre outros (Lordello, 1964).

3.2.1 Ciclo de vida de *Meloidogyne* spp.

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* possuem vários modos de reprodução. Espécies desse gênero podem se reproduzir sexualmente (anfimixia) ou através de partenogênese, que pode ser mitótica, ou meiótica, dependendo da presença ou ausência de machos (Castagnone-Sereno *et al.*, 2013). O ciclo de vida é constituído pela fase de ovo, quatro estádios juvenis (J1, J2, J3, J4) e adultos (Gheysen & Fennol, 2002), com duração aproximada de 25 dias a uma temperatura média de 27° C, podendo se prolongar em casos de oscilações de temperatura (Agrios, 2005).

Em regiões de clima tropical, espécies de *Meloidogyne* encontram condições de umidade e temperatura ideais para reprodução (Moreira *et al.*, 2015). A espécie *M. enterolobii* possui ciclo de vida com duração aproximada de quatro a cinco semanas quando em condições edafoclimáticas favoráveis (principalmente solos de textura arenosa, pobres em matéria orgânica, com temperatura entre 15 e 30 °C e umidade de 40 a 60% da capacidade de campo) (Eppo, 2014).

O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. (Figura 1) inicia-se com a deposição dos ovos pela fêmea (*M. enterolobii* em torno de 400 e 600 ovos) próximo à superfície da raiz (Eppo, 2014) em uma massa gelatinosa (Agrios, 2005), constituída de uma matriz de glicoproteínas,

produzida nas glândulas retais da fêmea (Moens *et al.*, 2009).

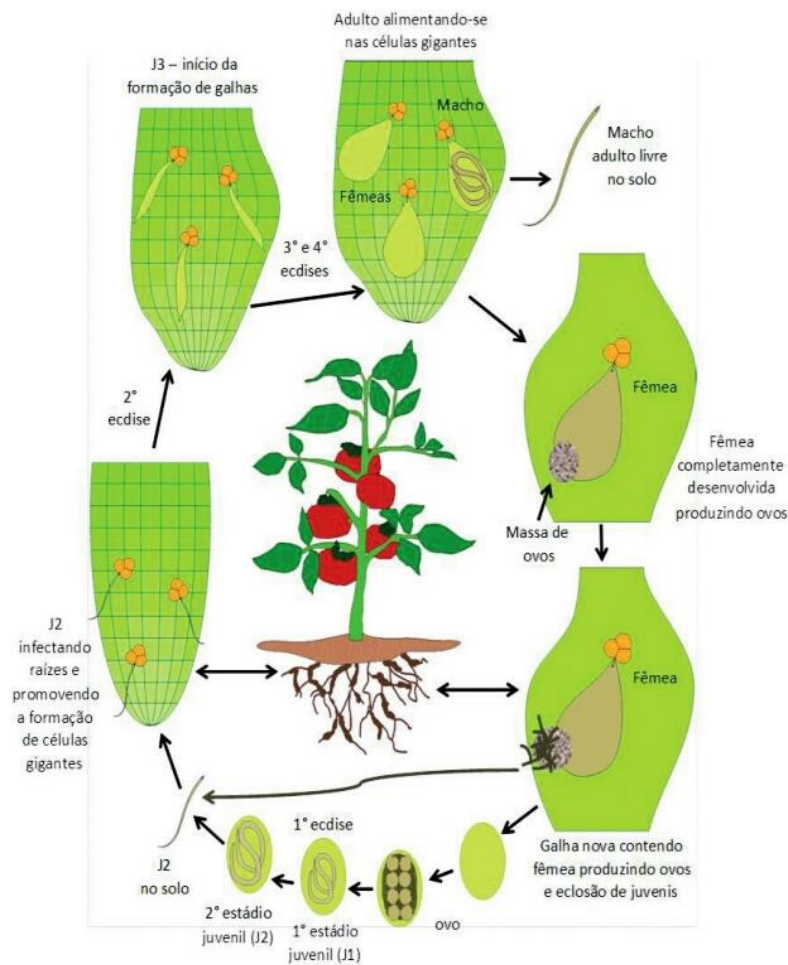


Figura 1. Ciclo de vida do nematoide das galhas em raízes do tomateiro. Fonte: Pereira, R. B. Adaptado de Agrios (2005).

Os ovos depositados pela fêmea são unicelulares e o seu desenvolvimento ocorre dentro de poucas horas após a oviposição, resultando em 2, 4, 8 e mais células, até a total formação do juvenil de primeiro estágio (J1) no seu interior (Saigusa, 1957). Após uma ecdise, ainda dentro do ovo, se transforma em juvenil de segundo estágio (J2) (Pinheiro *et al.*, 2013). Esse por sua vez, é responsável pela infecção, que ao eclodirem migram no solo em direção à raiz da planta hospedeira (Hunt & Handoo, 2009), orientados por exsudatos liberados pelas raízes (Pinheiro *et al.*, 2013) sob a forma de sinais químicos (Curtis *et al.*, 2009). De maneira geral,

o J2 eclode do ovo quando existe condições ambientais favoráveis à sua sobrevivência, tais como temperatura apropriada, disponibilidade de oxigênio, níveis de umidade do solo adequados e ausência de barreiras fisiológicas, como, por exemplo, a diapausa (Curtis *et al.*, 2009). Os J2s penetram na raiz por força mecânica (Taylor & Sasser, 1983), migram entre as células até a região meristemática (Hunt & Handoo, 2009). Depois movem-se entre as células dos tecidos da raiz, migram até a zona de alongação, na periferia do cilindro central e estabelecem sítios de alimentação no parênquima vascular, iniciando assim um complexo e íntimo relacionamento com a planta (Taylor & Sasser, 1983).

Através do estilete os nematoides depositam vários produtos salivares nas células parenquimáticas (Hunt & Handoo, 2009). As enzimas produzidas e secretadas pelas glândulas esofagianas causam um crescimento celular desordenado, levando à formação das células nutridoras, mais conhecidas como “células gigantes” ou cenócito, que são constituídas de cinco a sete células multinucleadas (Einsenback & Triantaphyllou, 1991; Karssen & Moens, 2006). Os nematoides retiram dessas células os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. (Hunt & Handoo, 2009). Concomitantemente, há intensa multiplicação celular (hiperplasia), que resulta na formação das galhas (Einsenback & Triantaphyllou, 1991; Karssen & Moens, 2006). A formação das células gigantes e a hiperplasia de células parenquimáticas provocam também a destruição de parte dos elementos do vaso do xilema e desorganização total do cilindro vascular (Wanderley & Santos, 2004), afetando diretamente na absorção de água.

Uma vez estabelecido o seu sítio de alimentação, os J2 se tornam sedentários, passando por mais três ecdises até a fase adulta (Hunt & Handoo, 2009). Os nematoides de terceiro e quarto estádios, J3 e J4 respectivamente, não possuem estilete, portanto não se alimentam (Brass *et al.*, 2008). Os machos adultos abandonam o sistema radicular e as fêmeas adquirem corpo globoso, permanecendo no interior das raízes, como endoparasitas sedentárias (Costa, 2000).

A reprodução das fêmeas é geralmente partenogenética, mitótica ou meiótica, e a presença de machos está relacionada às condições ambientais adversas (Siddiqi, 2000). Os machos podem ser abundantes quando as condições são desfavoráveis para o desenvolvimento da fêmea, quando por exemplo, as densidades populacionais são muito altas, ocorrendo uma limitação na disponibilidade de alimentos (Moens *et al.*, 2009) ou quando as temperaturas ficam acima de 40 °C ou abaixo de 5 °C reduzindo as atividades vitais dos nematoides (Brass *et al.*, 2008).

3.2.2 *Meloidogyne enterolobii*: Considerações gerais

A espécie *Meloidogyne enterolobii* foi descrita por Yang & Eisenback (1983) na China a partir do parasitismo em raízes de Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* Vell.), mas também encontrada em goiabeira (*Psidium guajava* L.) (Xu *et al.*, 2004). *Meloidogyne enterolobii* e *Meloidogyne mayaguensis*, relatadas em raízes de berinjela (*Solanum melongena* L.) por Rammah & Hirschmann (1988) em Porto Rico por se tratar da mesma espécie foram sinonimizadas por Karssen e colaboradores (2012).

Meloidogyne enterolobii é considerada uma espécie polífaga que possui inúmeras plantas hospedeiras, incluindo plantas cultivadas e plantas daninhas (Eppo, 2014). Está presente em áreas cultivadas em diferentes países, causando danos a diferentes cultivos (Carneiro *et al.*, 2006). Entre as hospedeiras principais estão *Solanum lycopersicum* (tomate), *Psidium guajava* (goiaba), *Phaseolus vulgaris* L. (feijão), *Coffea arabica* L. (café), *Solanum melongena* (berinjela), *Solanum quitoense* Lam. (naranjilla), *Carica papaya* L. (mamão), *Capsicum annuum* L. (pimentão), *Solanum tuberosum* L. (batata), *Glycine max* (L.) Merr (soja), *Ipomoea batatas* (L.) Lam (batata-doce), *Nicotiana tabacum* L. (tabaco) e *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai (melancia) (Carneiro *et al.*, 2006; Kaur *et al.*, 2007; Almeida *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2012).

A distribuição atual de *M. enterolobii* prevalece em ambientes mais tropicais (Eppo, 2014), sendo relatada também em vários países da América do Norte, Central e do Sul, África e Ásia (Cabi, 2000). No Brasil, a espécie foi detectada em 2001, naquele momento ainda designada como *M. mayaguensis*, causando prejuízos em pomares de goiaba nos estados de Pernambuco e Bahia, com base no fenótipo da esterase En2 (=M2), com duas bandas principais (Rm: 0.7, 0.9), duas bandas mais fracas (Rm: 0.75, 0.95) e algumas características morfológicas (Carneiro *et al.*, 2001). Diversas áreas de produção de goiaba no Brasil foram abandonadas devido ao ataque frequente dessa espécie (Carneiro *et al.*, 2001). Em pouco tempo o patógeno foi disseminado e várias detecções ocorreram em diferentes estados brasileiros (Eppo, 2014), principalmente pela disseminação por meio de mudas contaminadas provenientes da região de Petrolina (Carneiro 2003; Torres *et al.*, 2007).

Embora os caracteres morfológicos de *M. enterolobii* sejam semelhantes a outras espécies de *Meloidogyne*, a identificação a nível de espécie é geralmente baseada em uma combinação de morfologia, morfometria, caracteres e bioquímicos (fenótipo das esterases) ou métodos moleculares (SCAR) (Dong *et al.*, 2001; Eppo, 2011). A configuração perineal não é adequada nesse caso (Carneiro *et al.*, 2016), por ser bastante variável (Brito *et al.*, 2004). Em estudos da diversidade de *M. enterolobii*, a identificação através do fenótipo de esterase é uma das etapas primordiais, por permitir a identificação correta dessa espécie, detecção de misturas e purificação de populações (Tigano *et al.*, 2010).

Os avanços em técnicas moleculares têm contribuído para o aumento na eficiência da diagnose de fitonematoides, principalmente quando feita de forma integrada com dados morfológicos (Lopes & Ferraz., 2016). Marcadores SCAR têm sido utilizados com sucesso para diagnosticar algumas das principais espécies de *Meloidogyne*, associadas a culturas tropicais importantes como goiaba, hortaliças, fruteiras, algodão, café, soja, entre outras (Dong *et al.*, 2001). Estudos moleculares mostraram baixa variabilidade intraespecífica entre as

populações de *M. enterolobii*, sendo que o primer SCAR (MK7F) de 600 pb foi desenvolvido para identificar essa espécie (Tigano *et al.*, 2010).

3.3 Métodos de controle de fitonematoides

O manejo de fitonematoides consiste na aplicação de várias táticas de controle que visam manter populações de nematoides fitoparasitas em um nível abaixo do qual eles não causem danos econômicos (Freitas *et al.*, 2001). Entre as medidas de manejo pode-se destacar: as fitossanitárias (prevenção, quarentena e seleção de material propagativo sadio); culturais (rotação de culturas, destruição de restos culturais, inundação, pousio, matéria orgânica, época de plantio, plantas antagonistas e variedades resistentes); físicos (tratamento térmico e solarização do solo); químicos (nematicidas fumigantes e nematicidas não fumigantes) e biológicos (fungos, bactérias e outros microorganismos) (Freitas *et al.*, 2001).

A prevenção é a medida de manejo mais importante no controle de nematoides (Ferraz *et al.*, 2010). Consiste em evitar a introdução dos nematoides na área com adoção de um conjunto de medidas que incluem a produção de mudas em substrato estéril, incorporação de matéria orgânica no solo e utilização de cultivares resistentes (Freitas *et al.*, 2001). Em áreas infestadas o controle de nematoides das galhas é realizado principalmente pela aplicação de nematicidas e uso de cultivares resistentes (Mukhatar, 2018).

A aplicação de nematicidas tem tido seu uso limitado devido a seus efeitos de curta duração, altos custos, riscos à saúde e ao meio ambiente, toxicidade residual, efeitos adversos na microflora benéfica e fauna, efeitos fitotóxicos (Mukhatar, 2018) e desenvolvimento de resistência (Huang *et al.*, 2004).

No manejo de nematoides existem dois tipos de nematicidas químicos: os fumigantes e os não-fumigantes (Freitas *et al.*, 2001). Nematicidas voláteis como como 1,2-dicloropropano-1,3- dicloropropeno (DD), 1,2-dibromo-3-cloropropano - (DBCP) e brometo de metila têm

sido proibidos ou de uso restrito (Slutsky *et al.*, 1999; Chitwood 2002; Schneider *et al.*, 2003). O brometo de metila apesar de ser considerado o mais efetivo dos fumigantes de solo por ser um biocida, teve sua comercialização paralisada em 2001 pelo seu efeito deletério à camada de ozônio (Freitas *et al.*, 2001).

Entre os nematicidas não fumigantes tem-se os Carbamatos (Aldicarb e Carbofuran) que bloqueiam a respiração do nematoide e os organosfosforados (Fenamifós, Terbufós e Etoprofós) que inibem a acetilcolinesterase, uma atividade do sistema nervoso dos nematoides (Freitas *et al.*, 2001). Embora eficientes, os nematicidas carbamatos estão na lista de produtos químicos que não devem ser utilizados como nematicidas em campo, especialmente para culturas do grupo das hortaliças e fruteiras (Haydock *et al.*, 2006). Apresentam desvantagens por serem altamente tóxicos e possuírem efeito cumulativo, como resíduos, nos tubérculos ou raízes comerciais (Charchar, 1995; Charchar *et al.*, 2003).

Segundo o agrofit (2020), atualmente estão disponíveis no mercado cinco produtos químicos registrados para o manejo de fitonematoides no tomateiro, sendo duas abamectina, fenamifós, fluensulfona e metam-sódico. Um fator limitante na utilização de nematicidas para o controle de *M. enterolobii* nessa cultura consiste no fato de não haver produto registrado para o controle dessa espécie no tomateiro.

A utilização de plantas resistentes é uma medida que não oferece riscos à saúde humana, possui custo relativamente baixo e não polui o ambiente (Moreira *et al.*, 2018). Proporciona reduções significativas nas populações de nematoides, em diversas culturas gerando ganhos na produção final, tornando possível o cultivo em áreas infestadas de forma eficiente e prática, reduzindo contaminações de solo, atmosfera e lençol freático (Carneiro *et al.*, 2006). Entre as limitações estão o fato de existir poucas cultivares resistentes disponíveis para ao agricultor e, a resistência geralmente ser direcionada a uma ou poucas espécies de nematoides considerados mais importantes ou mais agressivos (Williamson & Kumar, 2006; Ferraz & Freitas, 2008).

No caso de *M. enterolobii*, a principal limitação na utilização de cultivares resistentes consiste na suplantação do gene *Mi* em tomateiros. Guimarães e colaboradores (2003) avaliaram o parasitismo de *M. enterolobii* em plantas conhecidas como resistentes, suscetíveis e antagonistas e demonstraram que a cultivar de tomateiro Viradouro, portadora do gene *Mi*, se mostrou suscetível a *M. enterolobii*. Rosa e colaboradores (2014) também detectaram suscetibilidade a *M. enterolobii* em todos genótipos e híbridos de tomateiro avaliados mediante testes em ambiente controlado. Bitencourt & Silva (2010) ao avaliar 19 espécies de orelicolas, demonstraram que todos os genótipos de tomate avaliados também foram considerados suscetíveis e que o acesso selvagem *Solanum peruvianum* L. PI-126443 mesmo sendo portador do gene *Mi* e *Mi-3*, mostrou-se suscetível a *M. enterolobii*.

Práticas alternativas como a rotação de culturas com plantas antagonistas têm se mostrado eficazes na redução de populações do nematoide das galhas, na recuperação de áreas infestadas e na diminuição do impacto negativo causado ao ambiente quando comparado ao controle químico (Carneiro *et al.*, 1998). Essa prática é realizada com a utilização de leguminosas antagonistas (crotalárias e mucunas) e gramíneas (milho e sorgo) (Charchar *et al.*, 2007). O uso de plantas antagonistas contribuem para o aumento da atividade tóxica, fixação de nitrogênio da atmosfera e fornecimento de volumes expressivos de matéria orgânica, melhorando as características gerais do solo (Ferraz & Freitas, 2008).

A utilização de plantas como a *Crotalaria spectabilis* Rothe e *Crotalaria paulinea* Schrank reduz a população dos nematoides, favorece a longevidade da cultura e promove o desenvolvimento de microrganismos eficientes na redução dos fitoparasitas (Mc Sorley, 1992). Espécies de cravo-de-defunto (*Tagetes minuta* L., *Tagetes patula* L.) são conhecidas por produzirem compostos nematotóxicos conhecidos como α -tertienil, o qual impossibilita a alimentação dos nematoides nas raízes (Ferraz *et al.*, 2010). São consideradas imunes a *M. enterolobii* as plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), milho (*Zea mays* L.) , *C.*

spectabilis, *C. breviflora* DC, *C. mucronata* Desv., *C. ochroleuca* L., mucuna anã (*Mucuna deeringiana* Bort) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) (Guimarães *et al.*, 2003; Rosa *et al.*, 2015).

Por outro lado, a rotação de culturas com plantas antagonistas nem sempre é eficiente porque várias plantas são hospedeiras das espécies de *Meloidogyne* spp. Por exemplo, as plantas de ervilhaca (*Vicia sativa* L.), feijão de porco (*Carnivalia ensiformes* L.), guandu anão (*Cajanus canjan* L.) ‘Iapar 43’ e ‘Fava Larga’, girassol (*Helianthus annuus* L.) ‘Catissol’ e ‘Uruguai’ comportam-se como suscetíveis a *M. enterolobii* (Rosa *et al.*, 2015).

O manejo integrado de pragas na agricultura visa a manutenção do equilíbrio dos níveis populacionais de pragas (Ferraz & Santos, 1995). É uma estratégia bastante almejada, mas que necessita de planejamento rigoroso, gestão intensiva da cultura e alto custo, podendo ser superior ao uso de defensivos agrícolas (Gentz, 2010). A integração de vários métodos deve ser planejada com baixo custo, sendo recomendados, com frequência, a rotação de culturas, o uso de genótipos resistentes, controle químico e biológico (Almeida *et al.*, 2005).

O controle biológico pode exercer papel importante no manejo integrado de nematoides (Ferraz & Santos, 1995), pois apresenta uma série de vantagens em relação aos agentes químicos promovendo a redução de população de nematoides pela ação de outros organismos vivos, que ocorrem naturalmente no solo ou introduzidos por meio da manipulação do ambiente pela ação do homem (Howell, 2003; Khan & Kim, 2007; Sahebani & Hadavi, 2008).

3.3.1 Controle biológico de fitonematoides

Ao longo dos anos vários autores têm definido o conceito de controle biológico. Cook & Baker (1983) conceituaram controle biológico como a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, pelo uso de um ou mais organismos, realizado naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou

antagonista ou, ainda, pela introdução em massa de um ou mais antagonistas. Para Eilenberg e colaboradores (2001), refere-se ao uso de organismos vivos ou seus metabólitos para reduzir a densidade populacional ou o impacto da doença de um organismo específico de pragas. Zambolim (2010) descreve como a inserção de um microorganismo para controle de outro, podendo apresentar efeito biocida, causando a morte do alvo, ou biostático, inibindo seu desenvolvimento.

No Brasil, a produção de produtos biológicos com a finalidade de controlar pragas e doenças aumentou mais de 70% em 2019 (MAPA, 2019 a). Alterações na legislação brasileira permitiram que ao final do ano de 2019 houvesse um aumento no registro de novos produtos, incluindo químicos, biológicos e orgânicos. Com objetivo de aumentar a concorrência no mercado, reduzir o preço dos defensivos e custos de produção, o ato Nº 91 publicado em 27 de dezembro de 2019 no Diário Oficial da União aprovou o registro de 36 defensivos agrícolas genéricos, ou seja, com base em ingredientes ativos que já estavam presentes em outros produtos existentes no mercado (MAPA, 2019 b). Em consequência disso o número de produtos biológicos e orgânicos registrados em 2019 chegou a 40 (MAPA, 2019 b).

Os agentes de controle biológico são capazes de se estabelecer, colonizar e dispersar no ecossistema (Ávila *et al.*, 2005). O aproveitamento adequado dos benefícios advindos dos agentes de biocontrole depende em grande parte do conhecimento do comportamento desses organismos e da caracterização precisa das suas variantes em nível específico (Consolo *et al.*, 2012). Entre as características essenciais na escolha desses microrganismos como agentes de controle de fitopatógenos, estão: não ser patogênico a plantas, seres humanos e outros animais; capacidade de reduzir alta densidade de nematoides; sobreviver no solo em condições extremas, mesmo sem a presença do hospedeiro; parasitar diversas espécies de fitonematoides; alta capacidade de disseminação no solo; facilidade de produção e economicamente viável; compatível com fertilizantes, defensivos e outras práticas culturais e permanecer infectivo ao

longo do tempo de armazenamento (Ferraz *et al.*, 2010). O aspecto mais importante a ser considerado no controle biológico é que os agentes de biocontrole sejam uma alternativa viável para diminuir o potencial de inóculo de patógenos habitantes do solo, sem trazer danos ao meio ambiente (Mello *et al.*, 2007).

Vários microorganismos antagonistas têm sido avaliados no controle de nematoides no mundo (Lopez - Llórca *et al.*, 2002) e o controle biológico tem se tornado uma opção desejável, sendo empregado com sucesso, principalmente com a aplicação de bactérias e fungos nematófagos (Ferraz *et al.*, 2010).

Os fungos são os microrganismos mais estudados no controle biológico de nematoides (Ferreira *et al.*, 2008). Mais de 700 espécies de fungos nematófagos foram descritas, sendo esses pertencentes a diversos grupos filogenéticos, incluindo Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota e Chytridiomycota (Li *et al.*, 2015). Apresentam sofisticadas estratégias para capturar, infectar, matar, e digerir fitonematoides (Li *et al.*, 2015) e são categorizados em grandes grupos com base nos mecanismos que eles usam para atacar nematoides: fungos predadores, endoparasitas, oportunistas (parasitas de ovos e de fêmeas sedentárias) e produtores de metabólitos tóxicos aos nematoides (Stirling, 1991).

Os fungos predadores aprisionam nematoides compartilhando uma capacidade única de formar estruturas especializadas de captura (armadilhas) para capturar nematoides (Li *et al.*, 2015). Podem viver de forma saprofítica no solo, no entanto, quando na presença de nematoides, estes fungos tornam-se predatórios através da produção de armadilhas específicas, incluindo anéis de constrição, botões adesivos, redes adesivas e colunas adesivas (Zhang & Hyde, 2014).

Fungos endoparasitas são os que liberam seus conídios ou zoósporo para infectar nematoides, germinam rapidamente e penetram o nematoide usando hifas (Lopez - Llórca *et al.*, 2008). *Drechmeria coniospora* (Drechsler) W. Gams & H. B. Jansson, 1985 é o fungo mais

estudado desse grupo, visto que pode produzir grande número de conídios adesivos (até 10000 conídios em um único nematoide) para infectar nematoides (Li *et al.*, 2015).

O grupo dos fungos parasitas de ovos e de fêmeas apresenta maior relevância no controle de fitonematoides, com destaque para as espécies *Purpureocillium lilacinus* (Thomn.) Samson e *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, conhecida anteriormente como *Verticillium chlamydosporium* Goddard (Ferreira *et al.*, 2008). Esses fungos utilizam apressórios, como estruturas de penetração especializadas ou ramificações miceliais laterais para infectar o nematoide (Lopez - Llórca *et al.*, 2008). Ao avaliar o parasitismo *in vitro* de ovos de *M. enterolobii* por linhagens de *P. chlamydosporia* e *P. lilacinum*, Silva e colaboradores (2017) observaram crescimento micelial de ovos para ambas as espécies, mas principalmente nos tratamentos com *P. chlamydosporia*. Os fungos que parasitam ovos apresentam vantagens como a facilidade de produção *in vitro* e a possibilidade de algumas espécies colonizarem a rizosfera, sem prejuízo das plantas (Lopez - Llórca *et al.*, 2002).

Os fungos produtores de toxinas produzem toxinas para imobilizar nematoides antes que as hifas penetram através da cutícula (Lopez - Llórca *et al.*, 2008). São representados pelos gêneros *Aspergillus*, *Pleurotus*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Myrothecium*, porém demandam mais estudos sobre o efeito das possíveis substâncias tóxicas produzidas por tais fungos no controle de nematoides (Ferreira *et al.*, 2008). Embora o principal modo de controle de nematoides por *Trichoderma* seja a produção de compostos tóxicos, há vários relatos de parasitismo de ovos de fitonematoides por nematoides deste gênero (Spiegel & Chet, 1998; Sharon *et al.*, 2001; Eapen *et al.*, 2005).

3.3.2 Gênero *Trichoderma* Persoon

O gênero *Trichoderma* foi originalmente descrito por Persoon em 1794 (Persoon, 1794). Trata-se da fase imperfeita de *Hypocrea*, pertencente ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Ascomycetes, Ordem Hypocreales, Família Hipocreaceae e sub-divisão Deuteromycotina (Kirk, 2012; Machado *et al.*, 2012;). São fungos de vida livre, filamentosos, que se reproduzem assexuadamente, presentes com mais frequência em solos de regiões de clima temperado e tropical (Machado *et al.*, 2012). Muitas linhagens não possuem ciclo sexual conhecido (Harman *et al.*, 2004).

Os deuteromicetos são caracterizados pela produção de conídios a partir de células conidiogênicas, contidas ou não em estruturas especializadas, ou por fragmentação do talo micelial (Kruger & Bacchi, 1995). Caracterizam-se por apresentar crescimento rápido, colônias dispersas, flocosas, ou compactadas em tufos, tamanho e formato dos conídios variados, clamidósporos, às vezes presentes, coloração de conídios variando de verde a amarelo ou até mesmo hialinos (Esposito & Silva, 1998). Os conidióforos são bem definidos e os conídios formados nas extremidades de fiálides de hifas diferenciadas (Figura 2) (Samuels, 1996).

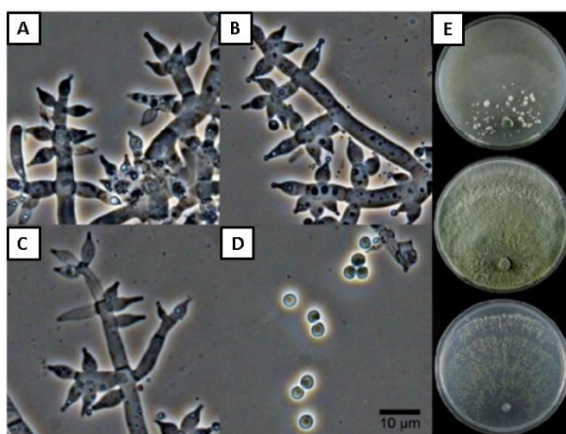


Figura 2. *Trichoderma harzianum* KUC21203. (A-C) Conidióforo. (D) Conídios. Barra=10µm. (E) Colônias em meios de cultura CMD (água - dextrose - farinha de milho); BDA (batata – dextrose - água) e SNA (água pobre em nutrientes sintéticos) . Fonte: Jang *et al.*, (2018).

A maioria das espécies de *Trichoderma* se desenvolve melhor em temperaturas entre 20 e 30 °C, porém existem outras variáveis que determinam o sucesso do seu desempenho em campo (Lobo Junior *et al.*, 2009). Trata-se de um gênero formado por fungos, cosmopolitas de solo, com espécies que são eficientes produtoras de enzimas industriais e, por isso, economicamente importantes (Druzhinina & Kubicek, 2005). São oportunistas, exercem simbiose com a planta (Sharon *et al.*, 2007), colonizam madeira, onde a fase sexual teleomorfa (gênero *Hypocrea*) é frequentemente encontrada (Machado *et al.*, 2012).

Com o desenvolvimento da filogenia molecular, o gênero *Trichoderma* foi agrupado em seções taxonômicas (Bissett, 1984), baseado em clados filogenéticos (Druzhinina *et al.*, 2010). Ainda assim, espécies de *Trichoderma* dentro de um mesmo grupo ou seção apresentam características sobrepostas, tornando difícil a classificação de isolados (Melo & Azevedo, 1998). A confirmação taxonômica de espécies desse gênero é baseada apenas em morfologia é considerada limitada e de baixa precisão, devido à diversidade de suas características (Filizola *et al.*, 2019). Embora a taxonomia atualmente seja baseada principalmente em análises moleculares (Kullnig *et al.*, 2000; Druzhinina *et al.*, 2010), para fazer comparações filogenéticas baseadas em sequências alvo, determinar as relações precisas entre os isolados e fazer a correta identificação de espécies de *Trichoderma*, as técnicas moleculares devem ser combinadas com a adoção de uma variedade de parâmetros (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2009; Bissett *et al.*, 2015).

3.3.2.1 *Trichoderma* spp. como agente de controle biológico de nematoides

O potencial das espécies de *Trichoderma* como agente de controle biológico de plantas infectadas foi reconhecido primeiramente por Weidling (1932), que descreveu a ação micoparasítica de *Trichoderma* em *Rhizoctonia* e *Sclerotinia* e seus efeitos benéficos no controle da patologia na planta. Desde então, várias espécies do gênero vêm sendo pesquisadas

e desenvolvidas como agentes de biocontrole para diversos patógenos (Mello *et al.*, 2007).

Devido à grande importância de várias espécies de *Trichoderma* na agricultura, esse grupo de fungos constitui a maioria dos bioagentes registrados para uso como biopesticidas e biofertilizantes, seguido de bactérias do gênero *Bacillus* e, *Purpureocillium*, fungo este registrado e comercializado como bionematicida, bactérias do gênero *Pseudomonas* e o actinomiceto *Streptomyces* (bactérias filamentosas) (Bettiol *et al.*, 2012). Bioprodutos à base de *Trichoderma* têm sido empregados com sucesso no controle de fitopatógenos, principalmente os de solo, pertencentes aos gêneros *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Sclerotinia*, em culturas importantes como soja, feijão, algodão, milho e várias hortaliças, além de espécies ornamentais (Bettiol *et al.*, 2012).

Trichoderma spp. são considerados agentes de controle biológico promissores porque grandes volumes de propágulos são produzidos rapidamente a baixo custo, podem ser estabilizados em formulação, possuem ampla gama de modos de ação e são considerados relativamente seguros ao meio ambiente e saúde humana (Woo *et al.*, 2014). Atualmente fungos deste gênero são estudados no controle biológico de patógenos fúngicos foliares, pós-colheita (Chet, 1987) e mais estudado no controle de patógenos habitantes do solo (Silva *et al.*, 2015). Esse fungo apresenta diferentes mecanismos de controle biológico, que incluem parasitismo, antibiose (metabólitos secundários), competição, indução de resistência de plantas a doenças e promoção do crescimento (Silva *et al.*, 2011; Isaias *et al.*, 2014.; Bezerra *et al.*, 2019).

A capacidade de parasitar outros fungos, produzir antibióticos, rápido crescimento, produção de clamidósporos (estruturas de resistência) e elevada capacidade de degradar carboidratos estruturais e não estruturais, estão entre as principais vantagens de *Trichoderma* (Knudsen *et al.*, 1991; Lorito *et al.*, 1993). Seu potencial no manejo de nematoides é devido à produção de metabólitos voláteis inibitórios, enzimas que degradam a camada de quitina que

reveste os ovos de nematoides (Santin, 2008), parasitismo exercido pelo antagonista diretamente nos ovos (Figura 3) (Sharon *et al.*, 2001), promoção de crescimento e indução de mecanismos de defesas das plantas (Howell, 2003). As enzimas extracelulares, como quitinase e protease possuem atividade antifúngica e nematicida, participando da relação de interação entre *Meloidogyne* spp. e *Trichoderma* (Sharon *et al.*, 2001).

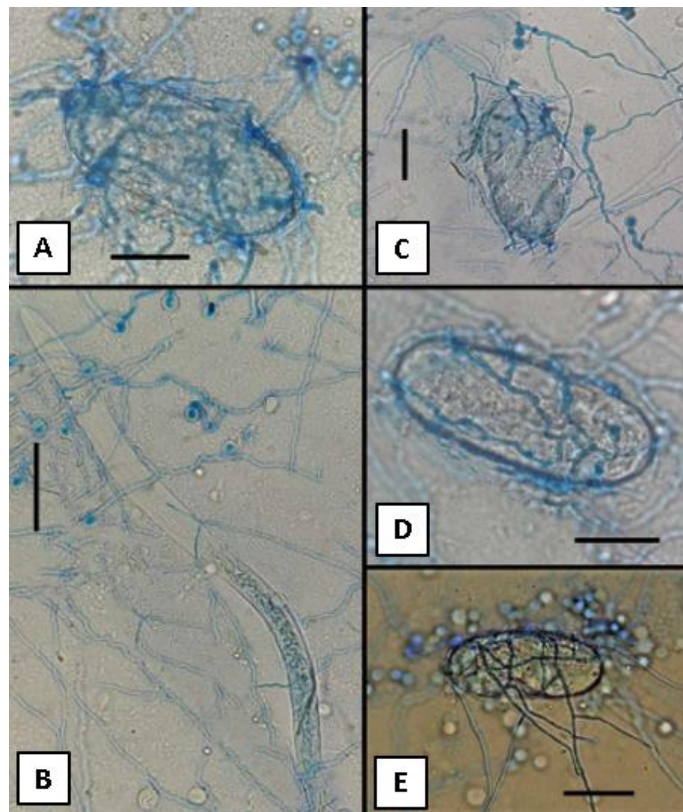


Figura 3. Efeito de isolados de *Trichoderma* sobre ovos e formas juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne enterolobii*. (A) Parasitismo de *Trichoderma longibrachiatum* sobre ovo de *M. enterolobii*. (B) Enrolamento das hifas de *T. atroviride* sobre J2 de *M. enterolobii*. (C) Degradação da parede celular do ovo de *M. enterolobii* por *T. atroviride*. (D) Parasitismo de *T. brevicompactum* sobre ovo de *M. enterolobii*. (E) Colonização de ovo de *M. enterolobii* por *T. asperellum*. Barras: A, C e D= 30µm, B= 70µm, E= 40µm. Fonte: Amaral *et al.*, (2018).

O gênero *Trichoderma* tem sido descrito como agente de controle biológico contra fitonematoides (Affokpon *et al.*, 2011), tendo demonstrado redução populacional de nematoides e promoção de crescimento em diversos trabalhos. Segundo Harman e

colaboradores (2004) a promoção de crescimento é um dos efeitos de *Trichoderma* sobre a planta que resulta da interação simbiótica estabelecida pelo fungo com espécies vegetais, tornando as plantas bem nutridas e mais resistentes a infecções (Gravel *et al.*, 2007).

Al-Hazmi & TariqJaveed (2015) avaliaram os efeitos de diferentes densidades de dois isolados, *T. harzianum* e *T. viride* Pers. contra *M. javanica* em tomate. Os resultados indicaram que a aplicação das duas espécies contribuiu para o aumento do crescimento de plantas de tomate e redução significativa do número de galhas, ovos e juvenis de solo, com aumento da eficácia à medida que as densidades foram aumentadas. Antonioli e colaboradores (2018), ao testar doses crescentes de dois isolados de *Trichoderma* em sementes de soja, observaram que houve redução do FR e no número de massa de ovos de *M. incognita*.

Apesar da escassez de pesquisas envolvendo o uso de espécies de *Trichoderma* no controle de *M. enterolobii* (Amaral *et al.*, 2018), trabalhos tem sido desenvolvidos na tentativa de explicar a interação entre esses microrganismos. Zhang e colaboradores (2017) demonstraram que conídios do fungo *T. longibrachiatum* germinaram, produziram grande número de hifas na superfície dos ovos na fase inicial e parasitaram a superfície de juvenis de segundo-estádio (J2) de *H. avenae*. A fixação de conídios e parasitismo de fungos do gênero *Trichoderma* sob massa de ovos, ovos e J2s (Sharon *et al.*, 2007) ocorreram através da secreção de células, enzimas extracelulares hidrolíticas, como a protease tipo PRA1 (Suarez *et al.*, 2004), protease serina (SprT) (Chen *et al.*, 2009) e enzimas quitinolíticas chi18-5 e chi18-12 (Szabó *et al.*, 2012).

Outra característica importante de *Trichoderma* que contribui para a eficiência no controle biológico é um fenômeno denominado rizocompetência, que consiste em uma interação íntima com raízes, resultando em benefícios para as plantas, dentre eles, o aumento da resistência da planta a vários fatores abióticos (salinidade elevada, excesso ou falta de água e temperatura extrema), maior eficiência no uso de nitrogênio e redução da super expressão de

genes de estresse ou acúmulo de compostos tóxicos, durante a resposta da planta a patógenos (Shoresh *et al.*, 2010). A rizocompetência desses microorganismos pode contribuir para o aumento do potencial nematicida de diversas espécies desse gênero, sendo, portanto, característica importante e que deve ser amplamente estudada no controle de nematoides.

Estudos bioquímicos e moleculares concluíram que *Trichoderma* spp. também são capazes de induzir resistência de plantas a doenças, através da liberação de elicitores que são responsáveis pela ativação de fatores de transcrição de plantas e expressão de genes associados com resistência a estresses bióticos e abióticos (Shoresh *et al.*, 2010). A ativação do sistema de defesa de plantas está relacionada também com a produção de metabólitos secundários pelo agente de biocontrole (Harman *et al.*, 2004; Woo *et al.*, 2006; Shoresch *et al.*, 2010).

Plantas de tomate tratadas com *T. harzianum* (T10) reforçaram consistentemente a atividade de peroxidase e fenoloxidase após infecção por *M. javanica* (Selim *et al.*, 2014). Após a inoculação com ovos de *H. avenae* e conídios de *T. longibrachiatum* a atividade de quitinase e β -1, 3-glucanase, flavonóides totais e conteúdo de lignina nas raízes de trigo aumentaram significativamente em diferentes estágios em comparação ao controle (Zang *et al.*, 2017). Leonetti e colaboradores (2017) afirmam que há evidências de que a espécie *T. harzianum* modula a expressão de genes associados às respostas imunológicas das plantas, que são eficazes contra fitoparasitas, como o nematoide das galhas.

Apesar de vários avanços na pesquisa e alterações na legislação para facilitar o registro de produtos e liberação no mercado brasileiro, ainda há poucos produtos registrados à base de *Trichoderma* para biocontrole de nematoides no Brasil. Atualmente estão disponíveis, no país, cerca de 25 produtos biológicos registrados junto ao MAPA como nematicidas microbiológicos. Desses, apenas um possui *Trichoderma* como ingrediente ativo (Agrofit, 2020). Para o controle de diversos outros patógenos, há também 25 biofungicidas (Agrofit, 2020). Em contrapartida, quando comparado com os nematicidas microbiológicos, os

biofungicidas a base de *Trichoderma* (17) estão em maior número.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área experimental

Os ensaios *in vivo* e *in vitro* foram conduzidos em casa-de-vegetação e laboratórios (Fitopatologia e Nematologia) localizados no CENARGEN (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia), em Brasília, Distrito Federal, no período compreendido entre fevereiro de 2019 a fevereiro de 2020.

4.2 Inóculo de *Meloidogyne enterolobii*

4.2.1 Obtenção do inóculo de *Meloidogyne enterolobii* e multiplicação em tomateiros

O inóculo de *M. enterolobii* foi obtido a partir de raízes de goiabeira proveniente de Petrolina - PE e multiplicado em tomateiros. Sementes da cultivar Santa Clara foram semeadas em bandejas com substrato Bioplante[®] e quando as mudas atingiram 15 dias de idade foram transplantadas individualmente para vasos de polipropileno com capacidade de 5 l, preenchidos até a metade com solo esterilizado Embrapa + Bioplante[®] na proporção 1:1. Para a extração de ovos de *M. enterolobii* foi utilizada a metodologia de Hussey & Baker (1973) com modificações. O sistema radicular das plantas foi lavado e cortado em pedaços de 2 a 3 cm de comprimento, com posterior trituração em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5%, sob baixa rotação, por 40 segundos. A suspensão foi passada em um conjunto de peneiras sobreposto de 20, 100 e 500 mesh. Os ovos retidos na última peneira (500 mesh) foram lavados com água para eliminar o hipoclorito, recolhidos em béquer, ressuspensos em água destilada e quantificados em microscópio de luz, sob objetiva de 4x. Foram realizadas três contagens com auxílio da lâmina de contagem contendo 1 ml da solução e, a partir da

média, procedeu-se a calibração de forma a conter 5000 ovos. Após seis dias do transplante, as mudas de tomate foram inoculadas com 5000 ovos de *M. enterolobii*. Foram feitos 5 orifícios opostos e distantes 3 cm do caule e o inóculo foi depositado com auxílio de uma pipeta de 5 ml.

4.2.2 Confirmação da espécie

Após três meses da inoculação dos tomateiros foi utilizada a técnica para identificação do nematoide com eletroforese de isoenzimas (Carneiro & Almeida, 2001), por meio da caracterização fenotípica das esterases. Fêmeas de coloração branco-leitosa de *Meloidogyne* foram extraídas de raízes de tomateiro e maceradas em 5 µl de solução extratora (constituída por 2 g de sacarose, 0,2 µl de Triton X-100, 1 mg de azul de bromofenol e 7,8 ml de água destilada) em tubos hematócitos. Até o momento da utilização, o extrato foi mantido em gelo. A corrida eletroforética foi realizada em gel de poliacrilamida na concentração de 7%, conforme metodologia descrita por Carneiro & Almeida (2001). O gel foi corado em solução contendo os corantes Fast Blue RR e α -naftil acetato, plastificado e fotodocumentado. A espécie *M. javanica* foi usada como padrão em cada gel e a posição das bandas foi baseada na Mobilidade Relativa (Rm) em relação às bandas padrão de *M. javanica* (Carneiro *et al.*, 2016).

4.3 Inóculos fúngicos

4.3.1 Linhagens de *Trichoderma* utilizadas

Foram avaliadas oito linhagens de *Trichoderma* pertencentes à Coleção de Microrganismos para o Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e quatro linhagens comerciais, originadas de cultivos monospóricos ou formuladas, conforme descrito na Tabela 1. As culturas, conservadas em

nitrogênio líquido, foram reativadas em meio de batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidas em tubos de ensaio contendo meio BDA, para serem usados oportunamente.

4.3.2 Identificação molecular de linhagens de *Trichoderma*

As linhagens pertencentes à Coleção de Microrganismos para o Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas do CENARGEN foram identificadas por Peixoto (2020), conforme descritas na tabela 1, a partir do sequenciamento de regiões do DNA genômico *its* (5.8 S e 28 S rDNA), *tefla* (Fator de Elongação), *cal* (Calmodulina) e *rpb2* (Subunidade II da Polimerase).

Tabela 1. Linhagens de *Trichoderma* pertencentes à Coleção de Microrganismos para o Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas do CENARGEN e produtos comerciais à base de *Trichoderma*.

Linhagens	Espécies	Local de coleta
CEN162	<i>Trichoderma asperelloides</i>	Goiânia-GO/Brasil
CEN287	<i>Trichoderma afroharzianum</i>	Distrito Federal-DF/Brasil
CEN288	<i>Trichoderma rifai</i>	Distrito Federal-DF/ Brasil
CEN289	<i>Trichoderma afroharzianum</i>	Distrito Federal-DF/ Brasil
CEN290	<i>Trichoderma rifai</i>	Distrito Federal-DF/ Brasil
CEN316	<i>Trichoderma rifai</i>	Distrito Federal-DF/ Brasil
CEN1153	<i>Trichoderma lentiforme</i>	Distrito Federal-DF/ Brasil
CEN1399	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Distrito Federal-DF/ Brasil
ESALQ 1306	<i>Trichoderma harzianum</i>	—
UFT 201	<i>Trichoderma asperellum</i>	Barreiras – BA/ Brasil
SF 04	<i>Trichoderma asperellum</i>	—
Mix	<i>Trichoderma asperellum</i>	Barreiras – BA/ Brasil
	<i>Trichoderma harzianum</i>	Uruçui – PI/ Brasil
	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Luis Eduardo Magalhães- BA/ Brasil
	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Jaíba – MG/ Brasil
	<i>Pochonia clamydosporia</i>	Barreiras – BA/ Brasil

4.3.3 Produção de inóculos fúngicos

Na produção de esporos das linhagens da Coleção para montagem dos ensaios *in vivo*, adotou-se a metodologia descrita por Carvalho e colaboradores (2011), modificada, em que tanto as linhagens provenientes da coleção do CENARGEN como as linhagens comerciais originadas de cultivos monospóricos foram cultivadas em BDA, em placas de Petri a 25 °C, por 8 dias (Figura 4), seguido de cultivo em arroz. O substrato de cultivo foi colocado em frascos Erlenmeyer de 250 ml de capacidade (50 g de arroz parboilizado/frasco), umedecido (60% pv^{-1}) e autoclavado (121 °C; 40 min). Ao substrato, foram então adicionados seis discos (5 mm de diâmetro) retirados das culturas fúngicas, e os frascos contendo as culturas foram mantidos por 9 dias a 25 °C com fotoperíodo de 16 horas. Para o recolhimento dos esporos foi acondicionada água destilada aos erlenmeyers e o substrato foi submetido a filtração em gaze esterilizada, seguido de homogeneização da suspensão e ajuste da concentração de esporos vigorosos (germinados em 16 horas) em câmara de Neubauer.

Para obtenção dos esporos a partir de produtos comerciais formulados, uma quantidade de cada produto foi acondicionada em frascos erlenmeyer de 250 ml, seguido pela adição de água destilada, filtração e ajuste da concentração, conforme descrito acima.

Para a montagem dos ensaios *in vitro*, os esporos das linhagens CEN162 e CEN287 foram recolhidos de culturas obtidas em BDA, a 25 °C, com 8 dias de cultivo. Às colônias, contidas em placas de Petri, foi adicionada água destilada e em seguida realizada a raspagem com auxílio de alça de Drigalski. A filtração e ajuste da suspensão de esporos à concentração desejada foram realizados conforme descrito anteriormente.

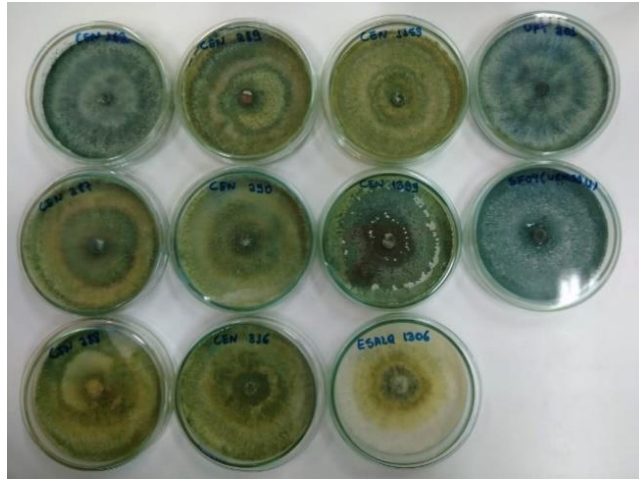


Figura 4. Linhagens de *Trichoderma* pertencentes à Coleção de Microrganismos para o Controle Biológico de Fitopatógenos e Plantas Daninhas do CENARGEN e produtos comerciais à base de *Trichoderma*, aos oito dias de crescimento.

4.4 Ensaios

4.4.1 Ação nematicida de linhagens de *Trichoderma* em casa de vegetação, no controle de *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro

Foi testada *in vivo* a capacidade parasitária de linhagens dos fungos *Trichoderma* sobre *M. enterolobii* em dois ensaios. O primeiro, instalado no período de março a junho de 2019 (verão/outono) e o segundo, de setembro de 2019 a janeiro de 2020 (primavera/verão). Sementes de tomateiro ‘Santa Clara’ foram semeadas em bandejas com substrato Bioplante®. Mudas com 13 dias de idade foram transplantadas individualmente para vasos de polipropileno com capacidade de 5 l. Previamente, os vasos foram preenchidos até a metade com solo esterilizado Embrapa + Bioplante® na proporção 1:1, tratado com 10 ml/vaso de suspensão de conídios das diferentes linhagens de *Trichoderma*, à concentração de $1,43 \times 10^6$ conídios/ml (ensaio verão/outono) e 1×10^8 conídios/ml (ensaio primavera/verão). Após seis dias, foram inoculados 5000 ovos de *M. enterolobii*/planta. Quinze dias após, as plantas foram conduzidas com estaqueamento.

4.4.1.1 Primeiro ensaio: Verão/outono (Março a junho de 2019)

No primeiro ensaio foram testadas oito linhagens pertencentes ao CENARGEN (CEN162, CEN287, CEN288, CEN289, CEN290, CEN316, CEN1153 e CEN1399) e três comerciais (UFT 201, ESALQ 1306 e SF 04) originadas de cultivos monospóricos ou formuladas (Tabela 1). Foram incluídas duas testemunhas, uma não inoculada com fungo e nematoide, e outra inoculada apenas com nematoide.

As plantas foram mantidas por 90 dias (plantas com 109 dias de idade) em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com 8 repetições (Figura 5). Durante o período experimental, os tomateiros foram irrigados diariamente e adubados conforme a necessidade. O manejo de pragas e doenças foliares foi realizado com a utilização de inseticidas, acaricidas e fungicidas.



Figura 5. Tomateiros em casa de vegetação após 90 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*.

Ao final do ensaio, as plantas foram medidas do colo até o maior ponto de crescimento com uma régua graduada. A parte aérea foi acondicionada em estufa à 65 ° C por 48 hs, sendo determinado, então, o peso seco. As raízes foram separadas da parte aérea (Figura 6), lavadas cuidadosamente em água corrente para retirada dos restos de solo e, então, avaliadas quanto

ao peso fresco de raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, total de ovos/raiz, ovos/g de raiz e fator de reprodução.

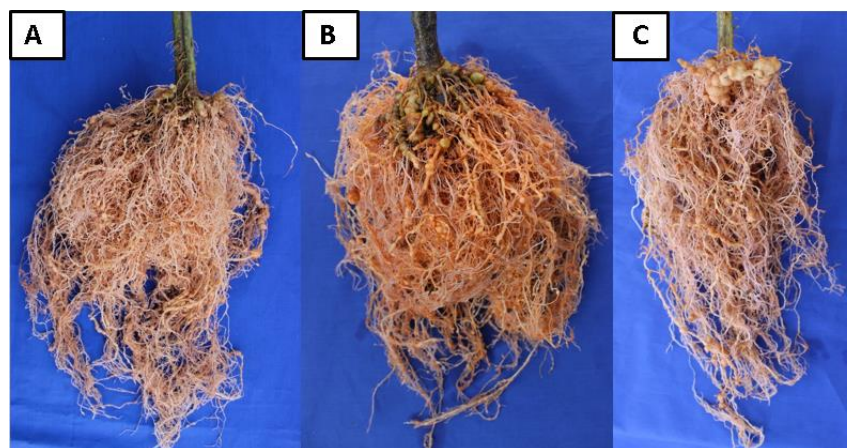


Figura 6. Raízes de tomateiros após 90 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*. (A) Raiz tratada com *Trichoderma afroharzianum* (CEN288). (B) Raiz tratada com produto comercial (*T. harzianum* - ESALQ 1306). (C) Raiz tratada com produto comercial (*T. asperellum* - SF 04).

As raízes foram coradas com Floxina B e quantificadas quanto aos índices de galhas (IG) e de massa de ovos (IMO). Os índices foram determinados com base na escala de 0 a 5 proposta por Hartman & Sasser (1985), conforme segue: 0 = ausência, 1 = 1 a 2; 2 = 3 a 10; 3 = 11 a 30; 4 = 31 a 100 e 5 = mais de 100 galhas ou massas de ovos por planta.

A extração dos ovos foi feita pelo método de Hussey & Barker (1973), mediante trituração em liquidificador em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1%, sob baixa rotação, por 40 segundos. O volume foi transferido para a câmara de contagem de Peters e, o número de ovos, quantificados sob um microscópio de luz (4 x); o fator de reprodução (FR) foi obtido pela expressão ($FR = Pf / Pi$, onde Pf = população final corresponde ao número de ovos/planta e Pi = população inicial inoculada com 5000 ovos), de acordo com Oostenbrink (1966).

Os dados de altura, peso seco de parte aérea e peso fresco de raízes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$) através do programa R. Os dados de peso fresco de raízes foram transformados usando $\log(x+1)$. Os dados de total de ovos, ovos/g de raízes e FR foram transformados usando $\sqrt{x+1}$ para a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$), com o auxílio do programa R. Todos os parâmetros foram correlacionados por correlação de Pearson ($P < 0,05$).

4.4.1.2 Segundo ensaio: Primavera/verão (Setembro de 2019 a janeiro de 2020)

No segundo ensaio, foram testadas somente as linhagens CEN162, CEN287 e incluídos quatro tratamentos com as linhagens comerciais formuladas (UFT 201, ESALQ 1306, SF 04 e Mix). Diferentemente dos demais produtos, a formulação mista (Mix) utilizada era constituída por três linhagens de *Trichoderma*, uma de *Purpureocillium lialacinum* e uma de *Pochonia clamydosporia* (Tabela 1), segundo informação da empresa produtora do formulado. Foram adicionados oito tratamentos - testemunha, sendo um não inoculado com fungo e nematoide; outro inoculado somente com nematoide e seis inoculados com fungo.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 110 dias (plantas com 129 dias de idade), em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições (Figura 7). Durante o período experimental, os tomateiros foram irrigados diariamente, adubados conforme a necessidade e o manejo de pragas e doenças foliares foi realizado com a utilização de inseticidas, acaricidas e fungicidas.

As medidas de comprimento de parte aérea foram coletadas após 45 dias da inoculação com nematoide (plantas com 64 dias de idade). Aos 110 dias após a inoculação com nematoide, foi determinado o peso seco de parte aérea e as raízes foram avaliadas quanto ao peso fresco de raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, total de ovos/raiz, ovos/g de raiz e fator

de reprodução, conforme descrito no item 4.4.1.1.



Figura 7. Tomateiros em casa de vegetação após 110 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*.

Os dados de altura de parte aérea foram submetidos ao modelo GLM gamma e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) através do programa R. Os dados de peso seco de parte aérea e peso fresco de raízes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$) através do programa R. Os dados de peso fresco de raízes foram transformados usando $\log(x+1)$. As variáveis total de ovos, ovos/g de raízes e FR foram transformados usando $\sqrt{x+1}$ para a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$), com o auxílio do programa R. Todos os parâmetros foram correlacionados por correlação de Pearson ($P < 0,05$).

4.4.2 Ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação

Para testar a influência do agente de biocontrole sob o desenvolvimento de plantas de tomateiro, foram utilizadas as mesmas linhagens descritas anteriormente (Tabela 1), à exceção das linhagens CEN316, do CENARGEN, e o produto comercial Mix. Sementes de tomateiro ‘Santa Clara’ foram esterilizadas superficialmente com álcool 70% por 1 minuto, solução de hipoclorito de sódio (1%) por 1 minuto, submetidas à três lavagens em água destilada esterilizada e secagem em câmara de fluxo laminar por quinze minutos, sobre papel filtro em placas de Petri. Em seguida foram tratadas com 1 ml de suspensão de inóculo à concentração de $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ / 0,2 g de sementes, durante quarenta minutos, em tubo eppendorf e novamente submetidas à secagem como descrito acima.

Cinco sementes foram semeadas por vaso de polipropileno com capacidade de 800 cm^3 , contendo 500 gramas de substrato (solo esterilizado Embrapa + Bioplant[®]) na proporção 1:1, previamente tratados com 10 ml de suspensão/vaso, à concentração de $1,43 \times 10^6$ esporos/ml. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições e, o experimento, repetido uma vez no tempo.

Trinta e sete dias após a germinação, uma planta de cada vaso foi avaliada quanto à altura, peso seco de parte aérea, comprimento radicular e peso fresco de raízes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$) através do programa R. Apenas as variáveis peso fresco de raízes e peso seco de parte aérea foram transformadas usando $\log(x+1)$.

4.4.3 Ação *in vitro* de linhagens de *Trichoderma* sobre ovos e J2 de *Meloidogyne enterolobii*

A ação *in vitro* das linhagens CEN162, CEN287 e das linhagens comerciais (UFT 201, ESALQ 1306, SF 04 e Mix) sobre ovos e J2 de *M. enterolobii* foi avaliada segundo metodologia descrita por Silva *et al.*, (2017), modificada.

A extração dos ovos foi realizada de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1, a partir de plantas de tomateiro inoculadas com nematoides e mantidas em casa de vegetação por sete meses. Para a limpeza dos ovos, as amostras recolhidas na peneira de 500 mesh foram misturadas a caulim e, em seguida, submetidas a centrifugação por 5 minutos à 3500 rpm. O sobrenadante foi descartado e a amostra foi adicionada sacarose à 30%; novamente foi realizada uma centrifugação à 2500 rpm por 2 minutos e o sobrenadante foi recolhido por passagem em peneira de 500 mesh. Em câmara de fluxo laminar, o volume da suspensão foi reduzido suavemente com auxílio de uma pipeta para o volume final de 24 ml, seguido pela adição de 25 ml de Periogard, 500 µl de Penicilina (10 g/l) e 500 µl de Streptomicina (2,5 g/l). Esta suspensão foi, então, incubada à temperatura ambiente, por 20 minutos. Novamente a amostra foi centrifugada à 3500 rpm durante três minutos e, sob câmara de fluxo laminar, coletou-se levemente pelas bordas do recipiente o sobrenadante de 25 ml, ao qual foi adicionado água estéril, até completar o volume de 50 ml. A última centrifugação foi realizada à 3500 rpm por 3 minutos e o volume de 25 ml foi reduzido.

Para a instalação do ensaio, placas de Elisa de 12 poços foram previamente identificadas de forma aleatória com quatro repetições (poços) para cada tratamento, totalizando 24 poços. Cada poço foi preenchido com 3ml de ágar-água (1,5%) e, após solidificado, foi realizada a pipetagem de 100 µl da suspensão de ovos de nematoide (cerca de 500 ovos). Após secagem do excesso de água em câmara de fluxo laminar, uma gota de 150 µl de suspensão de esporos (1×10^6 esporos/ml) foi então colocada sobre os ovos. Após secagem do excesso de água do inóculo, um papel de filtro úmido foi colocado no lado interno da tampa para manter a

UR>75%. As placas foram cobertas com a tampa e incubadas no interior de uma bandeja plástica fechada contendo água (Figura 8 A), sob condições controladas ($25\pm 1^\circ\text{C}$, 16 horas de fotoperíodo). Água destilada + Tween 80 (0,05% v/v) foi utilizada como tratamento controle e o experimento foi repetido três vezes. Utilizou-se um datalogger para registro da umidade e temperatura durante todo o período experimental.

O primeiro ensaio foi avaliado aos oito dias após a montagem, o segundo, aos 16 dias e, o último, aos 21 dias. Os poços foram lavados individualmente (Figura 8 B) com 3 ml de água destilada, com o auxílio de um bastão de vidro. A lavagem foi feita em 3 etapas, com 1 ml de água em cada uma das etapas, evitando-se o rompimento de ovos ou de juvenis que eclodiram no período.

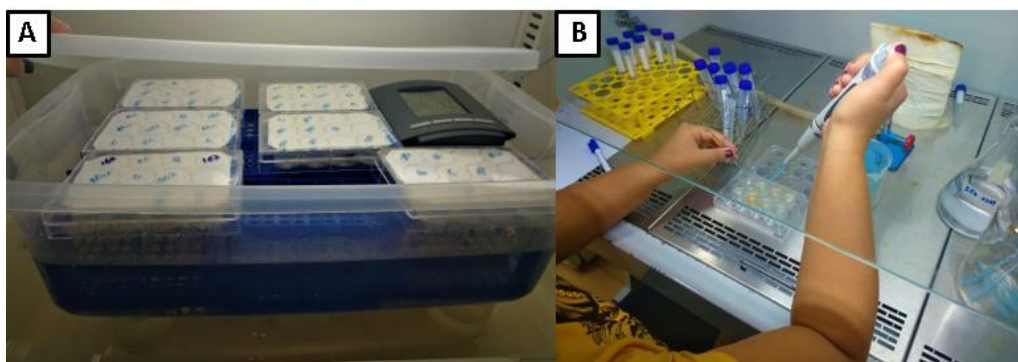


Figura 8. Montagem e avaliação de ensaio *in vitro*. (A) Placas de Elisa incubadas sob condições controladas (25°C). (B) Lavagem de poços das placas para coleta de ovos e juvenis de *Meloidogyne enterolobii* após a inoculação com 100 μl da suspensão de ovos (cerca de 500 ovos) do nematoide e 150 μl de suspensão de esporos (1×10^6 esporos/ ml) de linhagens de *Trichoderma*.

Todo o volume foi coletado com um pipetador e, em câmara de Peter, foram quantificados: número de ovos recuperados (NOR), número de juvenis eclodidos (NJE), número de ovos inviáveis (NOI), número de ovos parasitados (NOP) e número de juvenis parasitados (NJP). A partir dessas contagens, determinaram-se: Percentagem de eclosão de juvenis [$100 * (\text{NJE}/\text{NOR})$], Percentagem de parasitismo de ovos [$100 * (\text{NOP}/\text{NOI})$] e

Porcentagem de parasitismo de juvenis [$100 * (NJP/NJE)$]. Os dados foram submetidos ao modelo GLM betabinomial e as médias comparadas pelo teste T de comparações múltiplas ($P < 0,05$), com auxílio do programa R.

4.4.4 Avaliação da habilidade de linhagens de *Trichoderma* na colonização da rizosfera de tomateiro

Neste ensaio, avaliou-se a colonização da rizosfera pelas linhagens de *Trichoderma*, característica importante para o controle biológico de patógenos e promoção de crescimento de plantas. Cinco sementes de tomateiro ('Santa Clara') foram distribuídas em vasos de polipropileno (800 cm³ de capacidade) preenchidos com 500 gramas de substrato (solo esterilizado Embrapa + Bioplant[®] na proporção 1:1). O substrato foi tratado com 5 ml de suspensão de esporos de *Trichoderma*/vaso, à concentração de 1×10^8 esporos/ml. Após a germinação das sementes, foi realizado desbaste, mantendo-se uma planta por vaso.

Os tratamentos consistiram de substrato autoclavado tratado com as linhagens de *Trichoderma* CEN162, CEN287 e três linhagens comerciais formuladas (UFT 201, ESALQ 1306 e SF 04). Adicionou-se um controle negativo (solo não tratado com *Trichoderma*). Dez vasos foram utilizados por tratamento, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em casa de vegetação. O experimento foi repetido duas vezes no mesmo período. Aos 14 dias após a germinação das sementes (23 dias após a inoculação), foi determinada a densidade de *Trichoderma* no solo rizosférico, conforme metodologia de Leonetti *et al.*, (2017) modificada.

Raízes de quatro plantas de tomate coletadas aleatoriamente foram agitadas vigorosamente para separar o solo aderente (solo rizosférico) do solo que não aderiu às raízes. As raízes com solo aderido foram transferidas individualmente para frascos Erlenmeyer de 250 ml de capacidade, contendo 100 ml de água destilada estéril + Tween 80 a 0,05% (v/v) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, EUA). As amostras foram colocadas em um agitador orbital a 150

rpm por 40 minutos para suspender os esporos. Dessas suspensões, foram preparadas diluições seriadas segundo a metodologia de Dhingra & Sinclair (1985), até a obtenção de suspensão com diluição de 10^{-4} . Alíquotas de 100 μ l das diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} foram semeadas em placas de Petri (90 mm de diâmetro) contendo meio Martin (1950), semi - seletivo para *Trichoderma* spp. As suspensões foram espalhadas com auxílio de uma alça de Drigalski previamente flambada e as placas foram então acondicionadas a 25 °C, na ausência de luz, durante 5 dias (Figura 9 B e D). Todas as diluições e plaqueamentos foram realizados em duplicatas, perfazendo seis placas/tratamento. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso, com uma placa constituindo a unidade experimental.

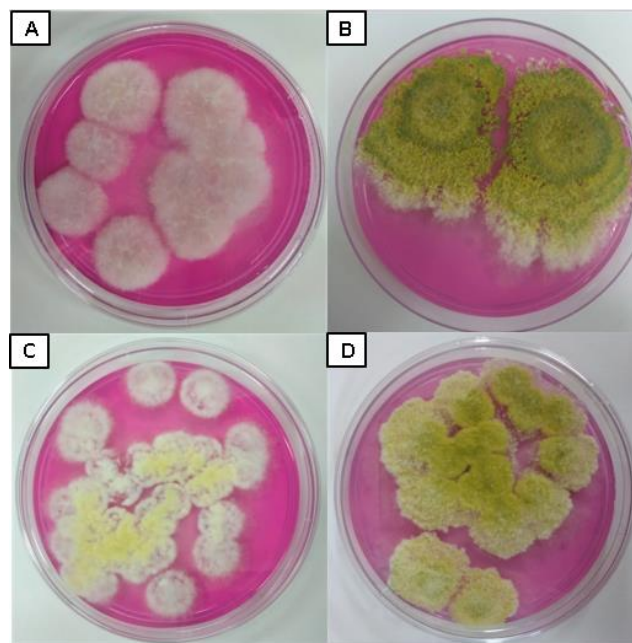


Figura 9. Colônias de *Trichoderma* spp. recuperadas de solo da rizosfera de plântulas de tomate, crescidas em BOD por diferentes períodos (3 a 5 dias) a 25° C. (A) *T. afroharzianum* (CEN287) aos 3 dias de crescimento. (B) *T. asperellum* (SF 04) aos 5 dias de crescimento. (C) *T. asperelloides* (CEN162) aos 3 dias de crescimento. (D) *T. asperelloides* (CEN162) aos 5 dias de crescimento.

Para obtenção do peso seco, as raízes lavadas foram removidas do frasco Erlenmeyer e o solo rizosférico remanescente foi filtrado através de filtro de papel Whatman N°. 5 acoplado

em bomba à vácuo. O peso seco da amostra de solo retida foi determinado gravimetricamente após secagem do papel de filtro em estufa a 60 °C por 24 h. Determinou-se o número de UFC de cada amostra e os valores de contagens foram multiplicadas pelo fator de diluição e divididas pelo peso seco da amostra de solo rizosférico, para obtenção das UFC por grama ($\text{UFC}^{-1} \text{ g de solo seco}$). Os dados de UFC g^{-1} de solo seco foram submetidos ao modelo GLM Betabinomial negativo e as médias, comparadas pelo teste T ($p < 0,05$), utilizando o programa R.

5. RESULTADOS

5.1 Ação nematicida de linhagens de *Trichoderma* em casa de vegetação, no controle de *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro

5.1.1 Primeiro ensaio: Verão/outono (Março a junho de 2019)

No primeiro ensaio não houve influência das linhagens de *Trichoderma* spp. sob a altura e peso seco de parte aérea das plantas, quando comparada com a testemunha não inoculada (Tabela 2). No entanto, foi detectado que tomateiros inoculados com nematoides ou com nematoides + fungos apresentaram maior massa radicular quando comparados com tomateiros não inoculados com o nematoide.

A aplicação das linhagens CEN288 (190,00 g), CEN289 (146,43 g), CEN290 (193,50 g), CEN316 (138 g), CEN1153 (129,62 g), CEN1399 (128 g) e linhagens comerciais ESALQ 1306 (146,37 e 153,81 g) e SF 04 (137,81 e 192,02 g), tanto monospóricas como formuladas, promoveu aumento significativo do peso fresco de raízes, em comparação com a testemunha inoculada com o nematoide (100,68 g). Essas linhagens de *Trichoderma*, exceto CEN316 (FR 149,19), também promoveram aumento significativo do fator de reprodução (FR) quando comparado com a testemunha inoculada com nematoides (FR 88,81) (Tabela 2). Esses resultados mostram claramente que não houve nenhum efeito das diferentes linhagens do fungo no controle de *M. enterolobii*. Pelo contrário, na maioria dos tratamentos, houve incremento significativo da população do nematoide (FR), em relação às parcelas não tratadas com *Trichoderma* spp.

Apesar das plantas tratadas com as linhagens CEN162 (83,22 g), CEN287 (88,18 g) e UFT 201 monospórica ou formulada (107,81 e 96,25 g) terem apresentado peso fresco de raízes significativamente maior que a testemunha não inoculada (59,37 g), as mesmas mantiveram-se iguais à testemunha inoculada com nematoides (100,68 g) (Tabela 2). De modo semelhante, os FRs dos tratamentos, nos quais foram inoculadas essas linhagens, também não diferiram da

testemunha inoculada com nematoides.

O FR foi correlacionado de forma positiva e significativa com o peso fresco de raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, ovos/ gramas de raiz e total de ovos (Tabela 3). As variáveis como altura da planta, peso seco da parte aérea e peso fresco de raízes não apresentaram correlação significativa entre si.

Tabela 2. Avaliação de linhagens de *Trichoderma* (concentração $1,43 \times 10^6$ conídios/ml, 10 ml/vaso) na promoção de crescimento de tomateiros e reprodução de *Meloidogyne enterolobii* (FR), em casa de vegetação, três meses (março a junho de 2019) após a inoculação do nematoide

Tratamentos	Altura de parte aérea (cm)	Peso fresco de raízes (g)	Peso seco de parte aérea (g)	Índice de galhas	Índice de massa de ovos	Total de ovos	Ovos/g de raiz	FR
Testemunha não inoculada	187,65 a	59,37 a	51,88 b	0	0	0 a	0 a	0 a
Testemunha inoculada c/ nematoide	180,31 a	100,68 b	42,32 a	5	5	444083,33 b	4420,05 b	88,81 b
CEN162 + nematoide	180,70 a	83,22 b	38,21 a	5	5	588624,99 b	6563,91 b	117,72 b
CEN287 + nematoide	193,26 a	88,18 b	42,91 a	5	5	590416,66 b	6396,17 b	118,08 b
CEN288 + nematoide	177,27 a	190,00 c	57,31 b	5	5	1042708,33 c	5370,33 b	208,54 c
CEN289 + nematoide	184,33 a	146,43 c	48,33 b	5	5	1448375,00 c	10064,32 c	289,67 c
CEN290 + nematoide	176,45 a	193,50 c	54,87 b	5	5	1074125,00 c	6032,42 b	214,82 c
CEN316 + nematoide	186,06 a	138,00 c	48,00 b	5	5	745958,33 b	5449,36 b	149,19 b
CEN1153 + nematoide	184,18 a	129,62 c	45,80 a	5	5	981958,33 c	7163,82 b	196,39 c
CEN1399 + nematoide	182,03 a	128,00 c	44,81 a	5	5	1742833,33 c	15160,08 c	348,56 c
UFT 201 monospórica + nematoide	190,93 a	107,81 b	47,46 b	5	5	755291,66 b	6828,11 b	151,05 b
ESALQ 1306 monospórica + nematoide	166,15 a	146,37 c	44,97 a	5	5	965500,00 c	6549,20 b	193,09 c
SF 04 monospórica + nematoide	184,93 a	137,81 c	50,32 b	5	5	1215458,33 c	8577,56 b	243,09 c
UFT 201 formulada + nematoide	180,33 a	96,25 b	34,07 a	5	5	655333,33 b	6114,16 b	131,06 b
ESALQ 1306 formulada + nematoide	179,65 a	153,81 c	43,45 a	5	5	902000,00 c	6288,12 b	180,40 c
SF04 formulada + nematoide	163,86 a	192,02 c	52,15 b	5	5	1342208,33 c	6735,67 b	268,44 c
CV (%)	10,41	7,89	21,42			34,26	27,39	33,88

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

CV= Coeficiente de variação

Tabela 3. Matriz de coeficientes de correlação linear de Pearson entre as variáveis altura da planta de tomate (APA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco da raiz (PFR), índice de galhas (IG) por *Meloidogyne enterolobii*, índice de massa de ovos (IMO), ovos/ grama de raiz (NOG), total de ovos (TO) e fator de reprodução (FR).

Parâmetros	Coeficiente de correlação R ²							
	APA	PSPA	PFR	IG	IMO	NOG	TO	FR
APA	-	-0,12	-0,58	-0,23	-0,23	-0,14	-0,35	-0,35
PSPA		-	0,49	-0,23	-0,23	-0,21	0,10	0,12
PFR			-	0,60	0,60	0,53	0,79*	0,79*
IG				-	1,00*	0,86*	0,80*	0,78*
IMO					-	0,86*	0,80*	0,78*
NOG						-	0,93*	0,92*
TO							-	1,00*
FR								-

*Correlação significativa a P<0,05.

5.1.2 Segundo ensaio: Primavera/verão (Setembro de 2019 a janeiro de 2020)

No segundo ensaio também não houve influência das linhagens de *Trichoderma* spp. sob a altura (Tabela 4) e peso seco de parte aérea das plantas, quando comparada com a testemunha não inoculada (Tabela 5). Foi observado, na maioria dos tratamentos, aumento significativo no peso fresco de raízes, quando comparado com a testemunha não inoculada (Tabela 5). Exceto os tratamentos CEN162 (33,40 g), CEN287 (29,24 g), UFT 201 (34,29 g) e CEN287 + nematoides (39,45 g) mantiveram o peso de raízes igual ao da testemunha sem inoculação (29,92 g). Esses resultados são relevantes, pois a inserção de tratamentos com apenas a inoculação de fungos confirmou o menor potencial das linhagens CEN 162, CEN287 e UFT 201 em relação aos produtos comerciais à base das linhagens ESALQ 1306 (46,82 g) e SF 04 (48,74 g), na promoção do desenvolvimento radicular do tomateiro.

Nesse experimento, os FRs de todos os tratamentos com linhagens de *Trichoderma* foram iguais estatisticamente ao da testemunha inoculada com nematoides (Tabela 5) e o FR foi correlacionado de forma positiva e significativa com o peso fresco de raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, ovos/ gramas de raiz e total de ovos (Tabela 6). As variáveis altura da planta, peso seco da parte aérea e peso fresco de raízes não apresentaram correlação significativa entre si.

As raízes apresentaram-se mais danificadas, com necroses, apodrecimentos e com menor peso fresco (Figura 10) que no primeiro ensaio. Provavelmente, esse fato foi devido ao tempo mais longo de permanência das plantas na casa de vegetação (110 dias), aliado ao ataque da traça do tomateiro (*Tuta absoluta* Meyrick), acarretando a desfolha das plantas e a consequente diminuição do peso das raízes em relação ao primeiro ensaio.

Ficou comprovado que nenhuma das linhagens do fungo *Trichoderma*, incluindo as comerciais, exerceu atividade de controle biológico contra o nematoide *M. enterolobii* em tomateiro 'Santa Clara'. Vale salientar que uma das linhagens comerciais está registrada no

MAPA para o controle de nematoídes.



Figura 10. Raízes de tomateiros após 110 dias da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*. (A) Raiz tratada com produto comercial (*Trichoderma harzianum* - ESALQ 1306). (B) Raiz tratada com produto comercial (*T. asperellum* - SF 04).

Tabela 4. Ação de linhagens de *Trichoderma* sobre a altura de plantas de tomate, em casa de vegetação, após 45 dias (64 dias de idade) da inoculação com *Meloidogyne enterolobii*.

Tratamentos	Altura 45 dias após inoculação (cm)
Testemunha não inoculada	138,90 a
Testemunha inoculada c/ nematoide	133,42 a
CEN162	136,02 a
CEN287	131,98 a
UFT 201 formulada	139,73 a
ESALQ 1306 formulada	149,15 a
SF04 formulada	147,82 a
Mix formulado	148,23 a
CEN162 + nematoide	141,72 a
CEN287 + nematoide	142,99 a
UFT 201 formulada + nematoide	141,36 a
ESALQ 1306 formulada + nematoide	144,41 a
SF04 formulada+ nematoide	143,40 a
Mix formulado + nematoide	145,48 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 5. Avaliação de linhagens de *Trichoderma* (concentração 1×10^8 conídios/ml, 10 ml/vaso) na promoção de crescimento de tomateiros e reprodução de *Meloidogyne enterolobii* (FR), em casa de vegetação, 110 dias (setembro de 2019 a janeiro de 2020) após a inoculação do nematoide.

Tratamentos	Peso fresco de raízes (g)	Peso seco de parte aérea (g)	Índice de galhas	Índice de massa de ovos	Total de ovos	Ovos/g de raiz	FR
Testemunha não inoculada	29,92 a	53,90 c	0	0	0 a	0 a	0 a
Testemunha inoculada c/ nematoide	49,65 b	46,52 b	5	5	845200,00 b	17449,77 b	169,04 b
CEN162	33,40 a	50,24 b	0	0	—	—	—
CEN287	29,24 a	46,44 b	0	0	—	—	—
UFT 201 formulada	34,29 a	53,85 c	0	0	—	—	—
ESALQ 1306 formulada	46,82 b	53,63 c	0	0	—	—	—
SF04 formulada	48,74 b	57,23 c	0	0	—	—	—
Mix formulado	39,14 b	52,61 c	0	0	—	—	—
CEN162 + nematoide	43,60 b	46,59 b	5	5	749199,00 b	17143,86 b	149,84 b
CEN287 + nematoide	39,45 a	36,12 a	5	5	881185,18 b	19950,56 b	176,23 b
UFT 201 formulada + nematoide	41,20 b	47,42 b	5	5	703333,33 b	16948,38 b	140,66 b
ESALQ 1306 formulada + nematoide	59,36 b	62,47 c	5	5	855599,99 b	14504,18 b	171,12 b
SF04 formulada + nematoide	54,48 b	47,18 b	5	5	877200,00 b	16092,11 b	175,43 b
Mix formulado + nematoide	50,60 b	45,19 b	5	5	699200,00 b	13513,38 b	139,83 b
CV (%)	13,94	19,67			23,10	19,18	22,68

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

CV= Coeficiente de variação

Tabela 6. Matriz de coeficientes de correlação linear de Pearson entre as variáveis altura da planta de tomate (APA), peso seco da parte aérea (PSPA), peso fresco da raiz (PFR), índice de galhas (IG) por *Meloidogyne enterolobii*, índice de massa de ovos (IMO), ovos/ grama de raiz (NOG), total de ovos (TO) e fator de reprodução (FR).

Parâmetros	Coeficiente de correlação R ²							
	APA	PSPA	PFR	IG	IMO	NOG	TO	FR
APA	-	0,07	0,32	0,27	0,27	0,13	0,21	0,21
PSPA		-	0,21	-0,31	-0,31	-0,47	-0,27	-0,27
PFR			-	0,74*	0,74*	0,57	0,79 *	0,79*
IG				-	1,00*	0,94*	0,96*	0,96*
IMO					-	0,94*	0,96*	0,96*
NOG						-	0,94*	0,94*
TO							-	1,00*
FR								-

*Correlação significativa a P<0,05.

5.2 Ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação

Não houve influência da aplicação de *Trichoderma* sob peso seco de parte aérea e comprimento radicular das plantas 37 dias após a germinação, em comparação com a testemunha (Tabela 7). No entanto, a maioria das linhagens testadas promoveu incrementos significativos na altura das plantas. Também, observou-se o aumento de peso fresco de raízes com as linhagens CEN162 (2,41 g), CEN290 (1,68 g), CEN1153 (1,69 g), CEN1399 (1,65 g), ESALQ 1306 monospórica (1,95 g) e SF 04 formulada (1,68 g).

Tabela 7. Avaliação de linhagens de *Trichoderma* quanto à promoção de crescimento em tomateiro, em casa de vegetação, 37 dias após a germinação.

Tratamentos	Altura de parte aérea (cm)	Peso fresco de raízes (g)	Comprimento radicular (cm)	Peso seco de parte aérea (g)
Testemunha não inoculada	14,50 a	0,94 a	26,61 a	0,45 a
CEN162	18,41 b	2,41b	32,46 a	1,10 a
CEN287	16,76 b	1,22 a	29,28 a	0,66 a
CEN288	13,95 a	1,36 a	29,65 a	0,53 a
CEN289	16,51 b	1,47 a	26,87 a	0,72 a
CEN290	16,91 b	1,68 b	24,26 a	0,71 a
CEN1153	17,66 b	1,69 b	30,46 a	0,85 a
CEN1399	15,97 b	1,65 b	31,26 a	0,66 a
UFT201 monospórica	14,60 a	1,40 a	30,73 a	0,68 a
ESALQ 1306 monospórica	16,81 b	1,95 b	25,75 a	0,91 a
SF 04 monospórica	16,22 b	1,47 a	31,81 a	0,73 a
UFT 201 formulada	15,43 a	1,17 a	29,02 a	0,70 a
ESALQ 1306 formulada	16,63 b	1,45 a	28,73 a	0,75 a
SF04 formulada	16,07 b	1,68 b	34,26 a	0,80 a
CV (%)	14,61	25,11	24,16	32,14

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

CV= Coeficiente de variaçãob

5.3 Ação *in vitro* de linhagens de *Trichoderma* sobre ovos e J2 de *Meloidogyne enterolobii*

Nos três experimentos o maior percentual de eclosão de J2 observado no controle foi de 31,63% aos 21 dias (Tabela 8). Nenhuma das linhagens de *Trichoderma* promoveu efeito de inibição sob a eclosão de juvenis de *M. enterolobii* aos 8 e 21 dias. No entanto, apesar de não ter sido observado ação parasitária nos ovos aos 16 dias pela linhagem CEN287 (Tabela 9), observou-se que apenas esta linhagem promoveu inibição na eclosão de J2 nesse período, quando comparado com o controle e todos os outros tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8. Percentagem (%) de eclosão de J2 de *Meloidogyne enterolobii* após diferentes períodos de exposição (8, 16 e 21 dias) de ovos às linhagens de *Trichoderma*.

Tratamentos	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
	(8 dias)	(16 dias)	(21 dias)
Controle	7,54 a	27,64 b	30,16 a
CEN162	6,43 a	29,46 b	19,02 a
CEN287	6,58 a	6,44 a	18,32 a
UFT 201	6,48 a	27,33 b	24,50 a
ESALQ 1306	6,83 a	28,61 b	31,63 a
Mix	7,10 a	19,05 b	14,56 a
SF 04	4,49 a	29,07 b	24,75 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste teste T a 5%.

Nenhum tratamento diferiu do controle quanto ao parasitismo de ovos aos 8 dias (Tabela 9). Contudo, aos 16 e 21 dias foi observado que as aplicações das linhagens UFT 201 e Mix diferiram estatisticamente de todos os outros tratamentos por promoverem maior parasitismo de ovos do nematoide, fato evidenciado pela formação de hifas, penetração, colonização dos ovos pelas linhagens fúngicas e degradação da parede celular dos ovos (Figura 11).



Figura 11. Colonização por micélio da linhagem UFT 201 e degradação de ovo de *Meloidogyne enterolobii* após 16 dias de exposição em meio ágar-água (1,5%).

Tabela 9. Percentagem (%) de parasitismo de linhagens de *Trichoderma* sobre ovos de *Meloidogyne enterolobii*, após diferentes períodos de exposição (8, 16 e 21 dias).

Tratamentos	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
	(8 dias)	(16 dias)	(21 dias)
Controle	0 a	0 a	0 a
CEN162	2,75 a	8,37 a	7,84 b
CEN287	6,58 a	8,77 a	5,25 b
UFT 201	13,61 a	31,48 b	37,71 c
ESALQ 1306	7,21 a	7,68 a	4,96 b
SF 04	12,46 a	6,51 a	6,64 b
Mix	5,15 a	28,02 b	32,45 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste teste T a 5%.

Nenhum tratamento diferiu entre as linhagens quanto ao parasitismo de J2 aos 8, 16 e 21 dias (Tabela 10). Os resultados aqui obtidos demonstram a baixa eficiência das linhagens fúngicas testadas na inibição da eclosão de juvenis e no parasitismo de ovos e J2 de *M. enterolobii*.

Tabela 10. Percentagem (%) de parasitismo de linhagens de *Trichoderma* sobre J2 de *Meloidogyne enterolobii*, após diferentes períodos de exposição (8, 16 e 21 dias).

Tratamentos	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
	(8 dias)	(16 dias)	(21 dias)
Controle	0 a	0 a	0 a
CEN162	11,19 a	14,47 a	7,77 b
CEN287	12,39 a	13,18 a	2,36 ab
UFT 201	4,8 a	4,56 a	1,87 ab
ESALQ 1306	11,4 a	6,58 a	2,33 ab
SF 04	9,89 a	7,56 a	3,49 ab
Mix	6,20 a	9,85 a	2,47 ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste teste T a 5%.

Nos três experimentos, não foi observada formação de estruturas dos fungos *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia clamydosporea*, no tratamento em que foi usada a mistura de fungos, designada neste trabalho como Mix. Possivelmente, o crescimento rápido das linhagens de *Trichoderma* inibiu o crescimento desses microrganismos.

5.4 Avaliação da habilidade de linhagens de *Trichoderma* na colonização da rizosfera de tomateiro

A análise da colonização do solo rizosférico pelas linhagens *Trichoderma* spp. mostrou que houve diferença significativa entre estas no experimento 1 (Tabela 11). As linhagens CEN162, CEN287 e SF 04 (comercial) demonstraram maior habilidade em colonizar o solo aderido as raízes das plântulas de tomate aos 14 dias, em comparação a linhagem ESALQ 1306. No experimento 2 não houve diferença entre as linhagens fúngicas testadas, mostrando a variação que pode ocorrer entre ensaios conduzidos em casa de vegetação, cujas condições bióticas e abióticas nem sempre são exatamente iguais.

Tabela 11. UFC ⁻¹ g de solo seco aderido às raízes de tomateiro, 14 dias após a germinação das sementes e 23 dias após a inoculação com 5ml de suspensões das linhagens de *Trichoderma*, à concentração 1x 10⁸ esporos/ml.

Tratamentos	UFC/g de solo seco	
	Experimento 1	Experimento 2
Controle	0 a	0 a
CEN162	1,79 x 10 ³ c	8,43 x 10 ³ b
CEN287	1,47 x 10 ³ c	3, 51 x 10 ³ b
UFT 201	8,93 x 10 ² bc	2,36 x 10 ³ b
ESALQ 1306	2,28 x 10 ² b	3,59 x 10 ³ b
SF 04	4 x 10 ³ c	4,24 x 10 ³ b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste de T a 5%.

6. DISCUSSÃO

6.1 Ação nematicida de linhagens de *Trichoderma* em casa de vegetação, no controle de *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro: Verão/outono e primavera/verão

Tendo em vista a crescente demanda por produtos biológicos capazes de aumentar a produtividade das culturas e o interesse na substituição de nematicidas convencionais por medidas mais eficientes e seguras de controle, este estudo contribuiu para a elucidação da capacidade parasitária de linhagens de *Trichoderma*, compreensão de suas atividades na promoção de crescimento do tomateiro ‘Santa Clara’ e como agente de biocontrole do nematoide das galhas *M. enterolobii*, nessa cultivar.

O aumento significativo do peso fresco das raízes de tomateiro em ambos os ensaios (verão/outono e primavera/verão), em comparação com a testemunha não inoculada, evidenciaram que a aplicação das linhagens de *Trichoderma* e as galhas induzidas pelos nematoides influenciaram nesse incremento. No entanto, o aumento significativo dos FRs promovido pela aplicação da maioria das linhagens de *Trichoderma* no primeiro ensaio (verão/outono) e a correlação positiva e significativa entre os FRs e peso fresco de raízes no primeiro e segundo ensaio comprovou que o aumento do peso de raízes propiciou o aumento da população do nematoide, o que é problemático no manejo de doença em áreas infestadas. A baixa habilidade do fungo em parasitar ovos e J2 aliada ao incremento do peso fresco das raízes, possivelmente resultou em aumento de sítios de alimentação para o nematoide e, conseqüentemente aumento da população de *Meloidogyne* spp.

Affokpon e colaboradores (2011), na tentativa de selecionar linhagens de *Trichoderma* para controle de nematoides, também demonstraram que ao invés de reduzir a população desses nematoides, algumas linhagens de *T. asperellum* contribuíram para o aumento significativo do FR, quando comparado à testemunha inoculada com nematoides.

Certas linhagens de *Trichoderma* caracteristicamente colonizam a epiderme e as células do córtex de raízes (Brotman *et al.*, 2010). A interação destas com a planta causa alterações na arquitetura do sistema radicular, possibilitando o aumento de área do sistema radicular. Essa interação fungo-planta leva a alterações na fisiologia da planta, resultando em benefícios à mesma, como a resistência a agentes patogênicos e eficiência fotossintética (Harman *et al.*, 2012). *Trichoderma* spp. pode auxiliar na manutenção da fertilidade dos solos, na decomposição de composto para a produção de adubos naturais (Harman *et al.*, 2004), na solubilização e disponibilização de nutrientes próximo às raízes (Carvalho *et al.*, 2011), na produção de substâncias quelantes que auxiliam, por exemplo, na incorporação do ferro pelas plantas (Altomare *et al.*, 1999) e de fitormônios, como harzianolide (Vinale *et al.*, 2008; Cai *et al.*, 2013). Todos esses processos estimulam a respiração das plantas, contribuindo para o aumento da fotossíntese ou sua eficiência (Lorito *et al.*, 2010).

O incremento do peso fresco de raízes das plantas ocasionado pela indução de galhas ocorre porque, quando as plantas reagem ao processo de infecção por nematoides, desencadeiam-se alterações anatômicas e fisiológicas desde as raízes até a parte aérea (Fonseca *et al.*, 2003). As plantas reagem com a formação de maior número de raízes laterais, para melhorar a absorção de água e nutrientes (Carneiro & Gomes 1993). Esta maior quantidade de raízes significa maior área de colonização para o nematoide das galhas, possibilitando o maior acúmulo de peso fresco de raízes e conseqüente crescimento populacional do nematoide.

É importante lembrar que o presente estudo não abrange um grande número de espécies/linhagens do agente de biocontrole. Embora os resultados deste trabalho com *M. enterolobii* tenham indicado o contrário, diversas pesquisas demonstram que *Trichoderma* spp. pode promover o desenvolvimento de raízes das plantas e simultaneamente atuar na redução populacional de várias espécies de nematoides.

Freitas e colaboradores (2012) avaliaram a ação de *Trichoderma* spp. a *M. incognita* em cana-de-açúcar e constataram que o isolado 311T apresentou diferença significativa no peso fresco de raízes, em comparação com a testemunha, e que esse isolado se destacou na redução significativa da reprodução do nematoide após 90 dias da inoculação. Kiriga *et al.*, (2018) demonstrou que a aplicação de *T. asperellum* M₂RT₄ proporcionou redução significativa do número de galhas, massas de ovos e ovos de *M. javanica*, promovendo, ainda, incremento de 91,5% no peso fresco de raízes de plantas de abacaxi após 90 dias da inoculação de nematoides. Jindapunnapat e colaboradores (2013) investigaram os efeitos de uma formulação comercial à base de *T. harzianum* sobre *M. enterolobii* e concluíram que 30 dias após a inoculação de nematoides o fungo estimulou o crescimento radicular das plantas e a redução de J2 no solo e raízes.

Micronutrientes como Ferro (Fe), Cobre (Cu), Manganês (Mn) e Zinco (Zn), Cálcio (Ca), assim como os macronutrientes [Fósforo (P), Nitrogênio (N) e Potássio(K)], podem ser solubilizados e/ou disponibilizados por *Trichoderma*, melhorando a absorção pelas raízes das plantas (Altomare *et al.*,1999; Segarra *et al.*, 2010; Santiago *et al.*, 2011, 2013). Algumas linhagens podem, também, produzir metabólitos secundários semelhantes a hormônios, ácidos orgânicos e pequenos peptídeos ou compostos orgânicos voláteis na rizosfera, conhecidos por terem efeitos de promoção do crescimento das plantas (Vinale *et al.*, 2008; Sofo *et al.*, 2012; Pelagio-Flores *et al.*, 2017). O ácido indol acético, por exemplo, é um metabólito com atividades análogas a fitohormônios (Cutler *et al.*, 1989) que proporciona o desenvolvimento de raízes laterais e alongamento de raízes primárias (Oliveira *et al.*, 2003).

O fungo *Trichoderma* pode ainda desencadear respostas no sistema de defesa das plantas, atuando na ativação de vias de sinalização contra vários patógenos (Brotman *et al.*, 2010; Shores *et al.*, 2010; Nawrocka & Małolepsa, 2013). Essa ativação pode estar relacionada com a produção de metabólitos ativos pelo agente de biocontrole (Harman *et al.*, 2004; Woo *et al.*,

2006; Shoresch *et al.*, 2010) ou com o aumento da atividade de certas substâncias liberadas pelas plantas, como a peroxidase, fenoxidase, quitinase, glucanase, flavonóides totais e conteúdo de lignina (Selim *et al.*, 2014; Zang *et al.*, 2017). A atividade da quitinase e da β -1,3-glucanase nas raízes de plântulas de trigo aumentou significativamente após 5, 10, 15, 20, 30 e 40 dias da inoculação de ovos de *H. avenae* e *T. longibrachiatum* (TL6) (Zhang *et al.*, 2017).

No presente estudo, nenhuma das duas concentrações ($1,43 \times 10^6$ conídios/ml e 1×10^8 conídios/ml) utilizadas contribuiu para a redução da população de *M. enterolobii*. Entretanto, há relatos de redução populacional de outras espécies de nematoides com o aumento de doses de *Trichoderma* spp. Antonioli e colaboradores (2018) observaram redução do FR e do número de massa de ovos de *M. incognita* em soja ao testarem doses crescentes ($0,25 \times 10^8$, $1,25 \times 10^8$ e $2,50 \times 10^8$ de conídios por 50 g^{-1} de sementes) de dois isolados de *Trichoderma* spp. A execução de ensaios com doses crescentes é uma alternativa para confirmar a supressão de fitopatógenos por agentes biocontroladores. Cabe lembrar que as interações de linhagens de *Trichoderma* são variáveis, mesmo dentro de uma mesma espécie, e são também dependentes de características específicas do hospedeiro.

O aumento do FR da testemunha inoculada do segundo ensaio (primavera/verão) superior a 100% quando comparado com o primeiro ensaio, pode ser devido ao maior tempo (20 dias a mais) de permanência das plantas em casa de vegetação, o que pode ter favorecido o nematoide em completar mais um ciclo de vida. Também, provavelmente a alta densidade populacional de traça do tomateiro e sua alimentação no parênquima foliar pode ter ocasionado redução na fotossíntese das plantas (Moura *et al.*, 2014), levando à redução do peso fresco de raízes.

Apesar de nenhuma das linhagens fúngicas testadas promover incremento na altura e massa seca da parte aérea das plantas de tomate, vários autores têm relatado resultados diferentes. Al-Hazmi & TariqJaveed (2015) relataram o aumento do crescimento de plantas de

tomateiro com aplicação de *Trichoderma*. O aumento de massa seca da parte aérea foi observado em diferentes culturas devido a aplicação desse fungo, exemplo em goiabeira (Jindapunnapat *et al.*, 2013), plantas de pepino (Silva *et al.*, 2011), soja, feijoeiro, milho e arroz (Pedro *et al.*, 2012; Chagas *et al.*, 2017).

Dos quatro produtos comerciais avaliados neste trabalho, um deles à base da linhagem ESALQ 1306 é o único registrado como nematicida biológico. Este é formulado como suspensão concentrada (SC), sendo também indicado para aplicação em sulcos de plantio contra os fungos patogênicos *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Fusarium*, spp e *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) Hohn., em várias culturas. A linhagem UFT 201 é registrada como promotor de crescimento para a cultura da soja, em aplicação no solo, sendo apresentada como formulação pó molhável. A linhagem SF 04, também possui registro como fungicida e é apresentada como formulação em grânulos dispersíveis em água (WG) e recomendada para todas as culturas afetadas pelos patógenos *S. sclerotiorum*, *Fusarium* spp. e *R. solani*, para aplicação em sementes ou em pulverizações. Já o Mix, ainda sem registro junto ao MAPA, vem sendo comercializado como formulação pó molhável para promoção do crescimento de plantas e controle de nematoides.

6.2 Ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação

Fisiologicamente, o crescimento inicial é o momento em que a planta necessita de maiores incrementos foliares e caulinares, para a formação da maquinaria fotossintética (Taiz & Zeiger., 2006). Resultados do ensaio de promoção de crescimento em casa de vegetação mostraram a capacidade das linhagens de *Trichoderma* em aumentar a altura da parte aérea e o peso fresco de raízes no início do ciclo do tomateiro.

Os isolados 2B2 e 2B22 de *T. harzianum* também demonstraram potencial como promotores de crescimento de mudas de cambará *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera

(Machado *et al.*, 2015). A eficácia das linhagem CEN289 e CEN290 foi comprovada por Carvalho e colaboradores (2011) na promoção do crescimento precoce do feijoeiro em casa de vegetação e em campo.

Durante os estágios iniciais da interação, *Trichoderma* pode mobilizar o sistema de defesa da planta hospedeira (Harman *et al.*, 2004), induzindo esta a produzir metabólitos secundários que podem estimular a promoção de crescimento vegetal. Os resultados observados neste trabalho, podem estar associados à produção de hormônios ou fatores de crescimento, uso de alguns nutrientes e aumento da disponibilidade e absorção de nutrientes pela planta (Machado *et al.*, 2012), provavelmente com maior efetividade no começo do ciclo da cultura.

6.3 Ação *in vitro* de linhagens de *Trichoderma* sobre ovos e J2 de *Meloidogyne enterolobii*

A seleção de linhagens de agentes de biocontrole por meio de ensaios *in vitro* constitui a primeira etapa do desenvolvimento de bioprodutos. Tais estudos oferecem controle preciso das condições experimentais e levam a resultados rápidos (Wang *et al.*, 2010; Dallemole-Giaretta *et al.*, 2012; Mensin *et al.*, 2012), possibilitando o conhecimento complementar, por exemplo, dos mecanismos de ação do agente, entre os quais, parasitismo e antibiose (Isaias *et al.*, 2014; Medeiros *et al.*, 2017). Os resultados deste estudo indicam a baixa performance, das linhagens testadas, em parasitar ovos e juvenis de *M. enterolobii*. Os resultados obtidos em casa de vegetação apontaram na mesma direção que os ensaios conduzidos *in vitro*, ou seja, não se observou atividade contra o patógeno.

O baixo percentual de eclosão de juvenis observado no controle dos três experimentos *in vitro* avaliados aos 8, 16 e 21 dias provavelmente deve-se devido a idade do inóculo do nematoide (ovos), o qual foi proveniente de plantas mantidas em casa de vegetação por longo período (sete meses). Todavia, uma possível explicação para a redução na eclosão de juvenis

aos 16 dias pela aplicação da linhagem CEN287 pode ser o mecanismo de antibiose por ação de metabólitos voláteis (Isaias *et al.*, 2014), uma vez que essa linhagem não apresentou efeito significativo no parasitismo de ovos nesse período. *Trichoderma* age diretamente sobre ovos e juvenis, pelo aumento da atividade de enzimas como quitinases e proteases, que promovem a degradação da parede celular destes (Sahebani & Hadavi, 2008).

A linhagem CEN287 já teve seu potencial de biocontrole contra outros fitopatógenos revelado. Entre várias linhagens de *Trichoderma* testadas por Carvalho e colaboradores (2011), CEN287 foi a mais eficaz no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijoeiro. Sua habilidade e eficácia no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* foi também demonstrada (Carvalho *et al.*, 2008). Em ambos os casos, o hiperparasitismo atuou sobre os patógenos mencionados.

Sabe-se que o parasitismo bem sucedido de *Trichoderma* sobre nematoides requer mecanismos para facilitar a penetração na cutícula de ovos desse patógeno (Mukhtar, 2018), como proteases extracelulares (Meyer *et al.*, 2000; Sharon *et al.*, 2001; Suarez *et al.*, 2004), enzimas líticas de modo geral (Spiegel *et al.*, 2005), e outros mecanismos que incluem produção de metabólitos fúngicos e resistência induzida (Freitas *et al.*, 1995; Goswami *et al.*, 2008). Zhang e colaboradores (2017) verificaram que o conteúdo dos ovos de *H. avenae* foi dissolvido por metabólitos secundários produzidos pelo agente de biocontrole, após 12 dias de exposição à espécie de uma linhagem de *T. Longibrachiatum* TL6.

O aumento no tempo de incubação permitiu verificar maior ação parasitária da linhagem UFT 201 e do Mix, sob os ovos aos 16 e 21 dias com a formação de hifas, penetração, colonização e conseqüente degradação dos ovos. A primeira linhagem corresponde a *T. asperellum* e o Mix é resultante da mistura de linhagens de *Trichoderma* (*T. asperellum*, *T. harzianum* e *T. longibrachiatum*), combinadas com linhagens das espécies *P. lilacinum* e *P. clamydosporia*, conforme rótulos dos produtos. Conforme descrito por Agrios (2005),

interações como penetração, enrolamento e desenvolvimento de hifas paralelas são interpretadas como hiperparasíticas. Esse processo é frequentemente associado à formação de apressórios de penetração (Mukhtar, 2018).

Zhang e colaboradores (2017) estudaram o efeito *in vitro* de diferentes concentrações de uma linhagem de *T. longibrachiatum* TL6 em ovos e juvenis de segundo estágio de *H. avenae* e concluíram que concentrações mais elevadas de conídios ($1,5 \times 10^6$ e $1,5 \times 10^7$ ml⁻¹) resultaram em parasitismo mais significativo, que aumentou conforme o aumento no tempo de incubação (8, 9, 10, 11 e 12 dias). Amaral e colaboradores (2018) testaram *in vitro* nove linhagens de *Trichoderma* quanto ao parasitismo de ovos e inibição da eclosão de juvenis de *M. enterolobii*, e concluíram que após 7 dias da inoculação de suspensões fúngicas e de ovos de nematoide, *T. breve* (T12), *T. asperellum* (T15) e *T. atroviride* (T9) foram eficientes no parasitismo dos ovos de *M. enterolobii*, colonizando 100%, 100% e 75,55%, respectivamente. No mesmo estudo, foi verificado que *T. atroviride* (T8) e *T. breve* (T12) causaram inibição significativa na eclosão de juvenis de *M. enterolobii*, com 75,55 e 100%, respectivamente.

Sharon e colaboradores (2007) mostraram o efeito parasitário de *T. asperellum* e *T. atroviride* sobre massas de ovos, ovos e J2 de *M. javanica* em ensaio *in vitro*, o qual observaram que a fixação de conídios e o parasitismo variaram entre espécies e linhagens de *Trichoderma*. Ainda, Sharon e colaboradores (2009) demonstraram o parasitismo como um dos modos de ação das espécies de *Trichoderma* contra *M. javanica*, mas com porcentagens de parasitismo nos ovos e J2 consideradas baixas. Em escala mundial, a espécie *T. asperellum* têm sido bastante utilizada como ingrediente ativo em produtos comerciais (Woo *et al.*, 2014).

A exemplo deste estudo desenvolvido, é importante ressaltar que a combinação de microrganismos biocontroladores tem sido uma estratégia em estudos de controle de fitopatógenos. Produtos que contêm uma combinação de agentes de biocontrole são atualmente mais aceitos e considerados mais eficientes no controle de patógenos e na promoção do

crescimento das plantas (Roberts *et al.*, 2005), do que formulações simples. A desvantagem na utilização de diferentes microrganismos conjuntamente seria a possibilidade de existir incompatibilidade entre os microrganismos presentes na formulação. No entanto, isso pode ser evitado, se testes de compatibilidade forem realizados previamente.

Apesar de algumas linhagens terem se destacado nos ensaios *in vitro*, em diferentes períodos, com resultados significativos no parasitismo de ovos e inibição de eclosão de juvenis, tais resultados são considerados insatisfatórios e insuficientes para apontar alguma linhagem como promissora no controle do nematoide.

6.4 Avaliação da habilidade de linhagens de *Trichoderma* na colonização da rizosfera de tomateiro

O estabelecimento do agente de biocontrole na rizosfera consiste no passo mais importante para a interação com a planta (Silva *et al.*, 2017). Sendo assim, a avaliação da habilidade de *Trichoderma* em colonizar o solo rizosférico de tomateiro é de suma importância para melhor compreensão dos mecanismos utilizados por esses fungos no biocontrole de fitopatógenos. É importante que esses microrganismos sejam capazes de colonizar rapidamente, proliferar, persistir no ambiente (Sariah *et al.*, 2005) e fornecer benefícios contínuos durante o ciclo das culturas (Harman, 2000).

No presente estudo, apesar dos resultados obtidos no mesmo período terem sido variáveis, a densidade populacional do fungo no solo diferiu significativamente entre isolados, no primeiro experimento, cujos resultados revelam o potencial das linhagens CEN162, CEN287 e SF 04 em colonizar o solo rizosférico, aos 23 dias da inoculação das linhagens de *Trichoderma*.

Affokpon e colaboradores (2011) avaliaram amostras de solos aderidos às raízes de tomateiro com objetivo de investigar a capacidade de isolados de *Trichoderma* em colonizar e

crescer em associação com as raízes e concluíram que o isolado *T. asperellum* T-12, além de produzir maior quantidade de UFC em solo rizosférico, também promoveu redução significativa do FR de *M. incognita* após 16 semanas da inoculação do nematoide. Leonetti e colaboradores (2017) verificaram que isolados de *T. harzianum* colonizam a rizosfera de plantas de tomate mantendo-se presentes no solo após quarenta dias, em casa de vegetação.

A compatibilidade entre a linhagem fúngica, a cultivar hospedeira e o substrato do solo podem desempenhar papel importante na proliferação e persistência de *Trichoderma* no solo (Affokpon *et al.*, 2011). Esses resultados reforçam a relevância da diversidade de espécies de *Trichoderma* e o indispensável entendimento de sua atuação na ecologia do ambiente rizosférico e no biocontrole de doenças de plantas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego do controle biológico no manejo integrado de doenças tem ganhado destaque nos últimos anos, representando um dos métodos mais importantes no cenário econômico da agricultura atual por fornecer inúmeros benefícios. Ressalta-se a importância de pesquisas no sentido de compreender melhor as interações microrganismo-planta-patógeno, que resultam na promoção de crescimento por linhagens de *Trichoderma* e no manejo de *M. enterolobii*.

Os resultados do presente trabalho apontam para a necessidade de cautela, ao se introduzir microorganismos no solo. A realização prévia de testes relativos ao comportamento reprodutivo da população de *M. enterolobii* pode contribuir para evitar aumento da densidade populacional do organismo e consequentes prejuízos econômicos. É necessário a busca de estratégias que tornem o uso de *Trichoderma* vantajoso para os agricultores (Leonetti *et al.*, 2017) e não o contrário. Além disso, faz-se necessário um rigoroso controle de qualidade dos produtos comercializados. As linhagens selecionadas devem ser submetidas a exaustivos testes de eficácia que comprovem a redução das populações dos patógenos.

A maioria das pesquisas realizadas até o momento relatando eficiência de *Trichoderma* spp. na redução de nematoides, em casa de vegetação, mostram que as avaliações foram realizadas entre 30 e 45 dias após a inoculação do nematoide. Esse tempo pode ser considerado insuficiente para avaliar a população do patógeno, quando em condições de campo. Outro aspecto importante a ser levantado é a não avaliação do FR pela maioria dos autores, levando em conta que este seria o melhor parâmetro para quantificar a reprodução e controle de nematoides.

Vale lembrar que a resistência genética do tomateiro a *Meloidogyne* não inclui *M. enterolobii*. Os estudos desenvolvidos neste trabalho irão contribuir para os conhecimentos relacionados ao controle biológico de fitopatógenos e servir de base para estudos futuros na identificação de possíveis linhagens de *Trichoderma* capazes de colonizar a rizosfera de plantas,

reduzir a população de nematoides e, simultaneamente, promover o desenvolvimento de raízes de plantas cultivadas como o tomateiro.

Os resultados desta pesquisa servem de alerta, uma vez que existem produtos a base de *Trichoderma* registrados ou não como nematicidas ou promotores de crescimento de plantas, que vem sendo comercializados e utilizados a campo para o controle do nematoide de galhas indistintamente, em diferentes culturas. É importante, no entanto, destacar que os ensaios foram realizados com um número limitado de linhagens de *Trichoderma* e, portanto, afirmar que inexistente controle do nematoide por esse fungo seria ainda prematuro.

8. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo se restringem ao tomateiro e a *Meloidogyne enterolobii*, uma espécie que não é controlada pelo gene *Mi*, comumente usado no manejo de outras espécies de nematoides de galhas. Apesar das linhagens de *Trichoderma* utilizadas terem demonstrado a capacidade de promover o desenvolvimento das raízes, agindo como um ótimo adubo natural, os ensaios *in vitro* demonstraram baixa eficiência dos fungos no efeito parasitário dos ovos e inibição da eclosão dos juvenis. Além disso, nenhuma das linhagens exerceu controle das populações de *M. enterolobii*, em duas dosagens dos produtos utilizadas nos ensaios em casa de vegetação. Pelo contrário, os fungos estimularam o aumento da população do nematoide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, P.; GOUZY, J.; AURY, J. M.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J.; DELEURY, E.; PERFUS-BARBECH, L.; ANTHOUARD, V.; ARTIGUENAVE, F.; BLOK, V. C.; CAILLAUD, M. C.; COUTINHO, P. M.; DASILVA, C.; DE LUCA, F.; DEAU, F.; ESQUIBET, M.; FLUTRE, T.; GOLDSTONE, J. V.; HAMAMOUCHE, N.; HEWEZI, T.; JAILLON, O.; JUBIN, C.; LEONETTI, P.; MAGLIANO, M.; MAIER, T. R.; MARKOV, G. V.; MCVEIGH, P.; PESOLE, G.; POULAIN, J.; ROBINSON-RECHAVI, M.; SALLET, E.; SÉGURENS, B.; STEINBACH, D.; TYTGAT, T.; UGARTE, E.; GHELDER, C. V.; VERONICO, P.; BAUM, T. J.; BLAXTER, M.; BLEVE-ZACHEO, T.; DAVIS, E. L.; EWBANK, J. J.; FAVERY, B.; GRENIER, E.; HENRISSAT, B.; JONES, J. T.; LAUDET, V.; MAULE, A. G.; QUESNEVILLE, H.; ROSSO, M.; SCHIEX, T.; SMANT, G.; WEISSENBACH, J. & WINCKER, P. 2008. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature Biotechnology* 26: 909-915.

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

AGRIOS, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 5th ed. Elsevier academic press. New York.

AGROFIT. 2020. http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons . Consultado em 17/01/2020.

AL-HAZMI, A. S. & TARIQJAVEED, M. 2015. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23: 288-292.

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V.; COSTAMILAN, L. M. & MEYER, M. C. 2005. Doenças da soja (*Glycine max*). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamim Filho, A. & Camargo, L. E. A. (eds.) *Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas*. 4^a ed. Ceres. Piracicaba – São Paulo. p.569-588.

ALMEIDA, E. J.; ALVES, G. C. S.; SANTOS, J. M. & MARTINS, A. B. G. 2011. Assinalamentos de *Meloidogyne enterolobii* em goiabeira e em plantas invasoras no estado de São Paulo, Brasil. *Nematologia Brasileira* 35: 50–52.

ALTOMARE, C.; NORVEL, W. A.; BJORKMAN, T. & HARMAN, G. E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295–22. *Applied Environmental Microbiology* 65:2926–2933.

ALVARENGA, M. A. R. 2004. Origem, botânica e descrição da planta. In: Alvarenga, M. A. R. (ed.). *Tomate: produção em campo e casa-de-vegetação e em hidroponia*. Editora Ufla. Lavras – Minas Gerais. p. 13-28.

ALVARENGA, M. A. R. 2013. Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. 2nd ed. Editora Ufla. Lavras - Minas Gerais.

AMARAL, A. C. T.; LIRA, V. L.; MOURA, R. M.; TIAGO, P. V. & OLIVEIRA, N. T. 2018. Biocontrole de espécies de *Trichoderma* sobre *Meloidogyne enterolobii*. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica 15: 159-166.

ANTONIOLLI, Z. I.; WOHLMBERG, M. D.; DOSSIN, M. F.; BERGHETTI, A. L. P. & BITENCOURT, V. 2018. *Trichoderma* na supressão de *M. enterolobii* em plantas de soja. In: Anais do XXXV CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA. Bento Gonçalves, RS. 24 a 29 de junho de 2018. Sociedade Brasileira de Nematologia. Bento Gonçalves, RS.

ASMUS, G. L. 2001. Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: Ferraz, L. C. C. B.; Asmus, G. L.; Carneiro, R. G.; Mazaferra, P. & Silva, J. F. V. Relações parasito-hopedeiro nas meloidoginoses da soja. Embrapa Soja. Londrina – Paraná. p. 39-56.

ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; SILVA, M. C. F. & MELLO, S. C. M. 2005. Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotium rolfii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Embrapa Recursos Genéticos. Brasília. Boletim Técnico de Desenvolvimento e Pesquisa 177. Embrapa. Brasília – Distrito Federal.

BARBOSA, E. A.; BONFIM, J. R. M. F.; BLOCH, J. R. C.; ENGLER, G.; ROCHA, T. & ENGLER, J. A. 2018. Imaging mass spectrometry of endogenous polypeptides and secondary metabolites from galls induced by root-knot nematodes in tomato Roots. Molecular Plant-Microbe Interactions 31: 1048-1059.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORRÊA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B. & BEZERRA, J. L. 2012. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna - São Paulo.

BEZERRA, G. A.; MUSSI-DIAS, V.; SANTOS, P. H. D.; AREDES, F. A. S. & SILVEIRA, S. F. 2019. Identificação e seleção de espécies de *Trichoderma* spp. endofíticos de bromélias de restingas como agentes de biocontrole da fusariose em frutos de abacaxi. Summa Phytopathologica 45: 172-178.

BISSETT, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sec. nov. Canadian Journal of Botany 62:924-931.

BISSETT, J.; GAMNS, W.; JAKLITSCH, W. & SAMUELS, G. J. 2015. Accepted *Trichoderma* names in the year. IMA Fungus 6: 263:295.

BITENCOURT, N. V. & SILVA, G. S. 2010. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas. Nematologia Brasileira 34: 181-183.

BRASS, F. E. B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E. & BOSQUÊ, G. G. 2008. Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes à cultura do café. Revista Científica Eletrônica de Agronomia. Ano VII, n. 14, Periódicos Semestral.

- BRITO J.; POWERS, T. O, MULLIN, P. G, INSERRA, R. N. & DICKSON, D. W. 2004. Morphological and molecular characterization of *Meloidogyne mayaguensis* isolates from Florida. *Journal of Nematology* 36: 232–240.
- BROTMAN, Y.; GUPTA, J. K. & VITERBO, A. *Trichoderma*. 2010. *Current Biology* 20: 390-391.
- CABI. 2000. Distribution Maps of Plant Diseases nº 804. *Meloidogyne mayaguensis*. CABI. Wallingford (GB).
- CAI, F.; YU, G.; WANG, P.; WEI, Z.; FU, L.; SHEN, Q. & CHEN, W. 2013. Harzianolide, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*. *Plant Physiology Biochemistry* 73:106–113.
- CARES, J. E.; FURLANETTO, C. & BLUM, L. E. B. Nematoides fitoparasitas. *In*: Blum, L. E. B.; Uesugi, C. H.; Carees, J. E. & Vale, H. M. M. 2012. Fitopatologia e microrganismos fitopatogênicos. (eds.). 1ª ed. Gráfica e Editora Positiva Ltda. p. 116-136.
- CARNEIRO, R. M. D. G. 2003. Uma visão mundial sobre a ocorrência e patogenicidade de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e outras culturas. *Nematologia Brasileira*: 27:229-230.
- CARNEIRO, R. M. D. G. & ALMEIDA, M. R. A. 2001. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira* 25: 35-44.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; BRAGA, R. S.; ALMEIDA, C. A. & GIORIA, R. 2006. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* parasitando plantas de tomate e pimentão resistentes à meloidoginose no estado de São Paulo. *Nematologia Brasileira* 30: 81-86.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; CARVALHO, F. L. C. & KULCZYNSKI, S. M. 1998. Seleção de plantas para o controle de *Mesocriconema xenoplax* e *Meloidogyne* spp. através de rotação de culturas. *Nematologia Brasileira* 22:41- 48.
- CARNEIRO, R. M. D. G. & GOMES, C. B. 1993. Metodologia e teste de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 7:66-75.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; MONTEIRO, J. M. S.; SILVA, U. C. & GOMES, G. 2016. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de izoenzimas e marcadores SCAR. *In*: Oliveira, C. M.; Dos Santos, M. A. & Castro, L. H. S. (eds.). *Diagnose de fitonematoides*. Millennium. Campinas, Brasil. p. 71-93.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A. & GOMES, A. C. M. M. 2001. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. *Nematologia Brasileira* 25: 223-228.
- CARVALHO, C.; KIST, B. B. & TREICHEL, M. 2016. Anuário brasileiro do tomate 2016. Editora Gazeta Santa Cruz. Santa Cruz do Sul. <http://www.editoragazeta.com.br/flip/anuario->

<tomate-2016/files/assets/basic-html/page16.html> Consultado em: 20/11/2018.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M. & GERALDINE, A. M. 2011. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46: 822-828.

CARVALHO, D. D. C.; OLIVEIRA, T. A. S.; BRAÚNA, L. M. & MELLO, S. C. M. 2008. Isolados de *Trichoderma* sp. antagônicos a *Fusarium oxysporum*. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado Técnico 178. Brasília – Distrito Federal.

CARVALHO, J. L. & PAGLIUCA, L. G. 2007. Tomate: Um mercado que não para de crescer globalmente. Hortifruti Brasil. <https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/tomate-um-mercado-que-nao-para-de-crescer.aspx> . Consultado em 04/09/2018.

CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J.; PERFUS-BARBEOCH, L. & ABAD, P. 2013. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: new insights from the genomic era. Annual Review of Phytopathology 51:203-220.

CHAGAS, L. F. B.; JUNIOR, A. F. C.; SOARES, L. P. & FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. 2017. Revista de Agricultura Neotropical 4: 97-102. 2017.

CHARCHAR, J. M. 1995. *Meloidogyne* em hortaliças. In: Anais do CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL XXVII. Rio Quente, GO. Sociedade Brasileira de Nematologia. Sbn/Organização dos Nematologistas da America Tropical. p.149-153.

CHARCHAR, J. M. & ARAGÃO, F.A.S. 2005. Reprodução de *Meloidogyne* spp. em cultivares de tomate e pepino sob estufa plástica e campo. Nematologia Brasileira 29:243-249.

CHARCHAR, J. M.; NETO, J. P. & ARAGÃO, F. A. S. 2003. Controle químico de *Meloidogyne* spp. em batata. Nematologia Brasileira, 27: 35-40.

CHARCHAR, J. M.; VIEIRA, J. V.; OLIVEIRA, V. R. & MOITA, A. W. 2007. Efeitos de Nematicidas fumigantes e não fumigantes no controle de *Meloidogyne* spp. em batata e cenoura. Nematologia Brasileira 31: 59-66.

CHEN, L. L.; LIU, L. J, SHI, M.; SONG, X, Y.; ZHENG, C, Y.; CHEN, X. L. & ZHANG, Y. Z. 2009. Characterization and gene cloning of a novel serine protease with nematicidal activity from *Trichoderma pseudokoningii* SMF2. FEMS Microbiology Letters 299:135–142.

CHET, I. 1987. *Trichoderma* – application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In: Chet, I. (ed.). Innovative Approaches to Plant Disease Control. John Wiley and Sons. New York. p.137-160.

CHITWOOD, D. J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control 1. Annual Review of Phytopathology 40: 221-249.

CLEMENTE, F. M. V. T.; MENDONÇA, J. L. & ALVARENGA, M. A. 2020. Tomate. Tratos culturais. Embrapa. <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tomate/arvore/CONT000fa2qor2r02wx5eo01x>

[ezlshcwkfx5.html](#) Consultado em: 15/01/2020.

CONSOLO, V. F.; MÓNACO, C. I.; CORDO, C. A. & SALERNO, G. L. 2012. Characterization of novel *Trichoderma* spp. isolates as a search for effective biocontrollers of fungal diseases of economically important crops in Argentina. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28:1389-1398.

COOK, R. J. & BAKER, K. F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society. Minnesota - U.S.A.

COSTA, D. C. Doenças causadas por nematoides. 2000. *In*: Cordeiro, Z. J. M. (ed.). Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Brasília – Distrito Federal. p.66-77.

CURTIS, R. H. C.; ROBINSON, A. F. & PERRY, R. N. 2009. Hatch and host location. *In*: Perry, R.; Moens, M. & Starr, J. (eds.). Root-knot nematodes. CABI Publishing. Wallingford. p.139–162.

CUTLER, H. G.; HIMMELSBACH, D. S.; ARRENDABLE, R. F.; COLE, P. D. & COX, R. H. 1989. Koninginin A: A novel plant growth regulator from *Trichoderma koningii*. *Agricultural Biological Chemistry* 53: 2605-2611.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. L.; ZOOCA, R. J. F. & FERRAZ, S. 2012. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. *Crop Protection*. 42:102-107.

DAVIS, R. F. & STETINA, S. R. 2016. Resistance and tolerance to nematodes in cotton. *In*: Galbieri, R. & Belot, J. L (eds.). Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle. IMAMT. Mato Grosso, MT. p. 166–243.

DECRAEMER, W. & HUNT, E. 2006. Structure and classification. *In*: Perry, R & Moens, M. (eds.). Plant Nematology. CABI Publishing. Wallingford. p. 3-32.

DHINGRA, O. D. & SINCLAIR, J. B. 1985. Basic Plant Pathology Method. CRC Press, Inc. Corporate Blvd. Florida.

DONG, K.; DEAN, R. A.; FORTNUM, B. A. & LEWIS, S. A. 2001. Development of PCR primers to identify species of root-knot nematodes: *Meloidogyne arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* and *M. javanica*. *Nematropica* 31: 271-280.

DRUZHININA, I. & KUBICEK, C. P. 2005. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea* from aggregate species to species clusters? *Journal of Zhejiang University Science* 6: 100-112.

DRUZHININA, I. S.; KUBICEK, C. P.; KOMOŃ-ZELAZOWSKA, M.; MULAW, T. B. & BISSETT, J. 2010. The *Trichoderma harzianum* demon: complex speciation history resulting in coexistence of hypothetical biological species, recent agamospecies and numerous relict lineages. *BMC Evolutionary Biology* 10:94-107.

EAPEN, S. J.; BEENA, B. & RAMANA, K.V. 2005. Tropical soil microflora of spice-based cropping systems as potential antagonists of root-knot nematodes. *Journal of Invertebrate*

Pathology 88: 218-225.

EILENBERG, J.; HAJEK, A. & LOMER, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biological Control* 46:387–400.

EISENBACK, J. D. & TRIANTAPHYLLOU, H. H. 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In: Nickle, W. R. (eds.). *Manual of agricultural nematology*. Marcel Dekke. New York – USA. p. 191-274.

EMBRAPA. 1993. *A cultura do tomateiro (para mesa)*. Editora e Serviços Editoriais Ltda. 1st ed. Brasília – Distrito Federal.

EPPO. 2011. *Meloidogyne enterolobii*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 41: 329–339.

EPPO. 2014. *Meloidogyne enterolobii*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 44: 159-163.

ESPINOZA, W. 1991. *Manual de produção de tomate industrial no Vale do São Francisco*. IICA, Codevasf. Brasília – Distrito Federal.

ESPOSITO, E. & SILVA, M. 1998. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews in Microbiology* 24: 89-98.

FAO. 2016. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> . Consultado em 20/11/2019.

FERRAZ, S. & FREITAS, L. G. 2004. Use of antagonistic plants and natural products. In: Chen Z. X, Chen, S. Y. & Dickson, D. W (eds.) *Nematology - Advances and perspectives*. CABI. Wallingford UK. p. 931-960.

FERRAZ, S. & FREITAS, L. G. 2008. O controle de fitonematóides por plantas antagonistas e produtos naturais. UFV. Viçosa – Minas Gerais.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. & DIAS-ARIEIRA, C. R. 2010. Manejo sustentável de fitonematóides. 1st ed. Editora UFV. Viçosa – Minas Gerais.

FERRAZ, S. & SANTOS, M. A. 1995. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* 3:283-314.

FERREIRA, P. A.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A. & FREITAS, L. G. 2008. Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. *Revista Trópica* 2: 15-21.

FILGUEIRA, F. A. R. 2008. *Novo Manual de Olericultura. Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças*. 3rd ed. rev. ampl. Editora UFV. Viçosa – Minas Gerais.

FILIZOLA, P. R. B.; LUNA, M. A. C.; SOUZA, A. F.; COELHO, I. L.; LARANJEIRA, D. & CAMPUS-TAKAKI, G. M. 2019. Biodiversity and phylogeny of novel *Trichoderma* isolates from mangrove sediments and potential of biocontrol against *Fusarium* strains. *Microbial Cell Factories*. 18: 89.

- FONSECA, H. S.; FERRAZ, L. C. C. B. & MACHADO. 2003. Caracterização do vacúolo de células gigantes induzidas por espécies de *Meloidogyne* com raízes de seringueira RRIM 600. *Nematologia Brasileira* 27:193-198.
- FORTES, F. O.; SILVA, A. C. F.; ALMANÇA, M. A. K. & TEDESCO, S. B. 2007. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. *Revista Árvore* 31:221-228.
- FREITAS, L. G.; FERRAZ, S. & MUCHOVEY, J. J. 1995. Effectiveness of diferente isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. *Nematropica* 25:109-115.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L. & FERRAZ, S. 2001. Introdução à Nematologia. 1st ed. (8^a reimpressão). Editora UFV. Viçosa – Minas Gerais.
- FREITAS, M. A.; PEDROSA, E. M. R.; MARIANO, R. L. R. & MARANHÃO, S. R. V. L. 2012. Seleção de *Trichoderma* spp. como potenciais agentes para biocontrole de *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar. *Nematropica* 42: 115-122.
- GENTZ, M. C.; MURDOCH, G. & KING, G. F. 2010. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. *Biological Control* 5:208-215.
- GHEYSEN, G. & FENOLL, C. 2002. Gene expression in nematode feeding sites. *Annual Review of Phytopathology* 40: 191-219.
- GOSWAMI, J.; PANDEY, R. K.; TEWARI, J. P. & GOSWAMI, B. K. 2008. Management of root knot nematode on tomato through application of fungal antagonists, *Acremonium strictum* and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Environmental Science and Health* 43:237-240.
- GRAVEL, V.; ANTOU, H. & TWEDDELL, R. J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology & Biochemistry* 39: 1968-1977.
- GRESSEL, J. B. & HARTMANN, K. M. 1968. Morphogenesis of *Trichoderma*: Action spectrum of photoinduced sporulation. *Planta* 79: 271-274.
- GUIMARÃES, L. M. P.; MOURA, R. M. & PEDROSA, E. M. R. 2003. Parasitismo de *Meloidogyne mayaguensis* em diferentes espécies botânicas. *Nematologia Brasileira* 27:139-147.
- HAN, H.; BRITO, J. A. & DICKSON, D. W. 2012. First report of *Meloidogyne enterolobii* infecting *Euphorbia punicea* in Florida. *Plant Disease* 96: 1706.
- HARMAN, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T – 22. *Plant Disease* 84: 377-393.
- HARMAN, G. E.; HERRERA-ESTRELLA, A. H.; HORWITZ, B. A. & LORITO, M. 2012. Special issue: *Trichoderma*—from basic biology to biotechnology. *Microbiology* 158: 1-2.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I. & LORITO, M. 2004. *Trichoderma* species - Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2:43–56.

HARTMAN, K. M. & SASSER, J. N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. *In*: Barker, K. R.; Carter, C. C. & Sasser, J. N. (eds.). *An advanced treatise on Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics. Raleigh – NC. p.525-543.

HAYDOCK, P. P. J.; WOODS, S. R.; GROVE, I. G. & HARE, M. C. 2006. Chemical control of nematodes. *In*: Perry, R. N. & Moens, M. (eds.). *Plant Nematology*. CAB International. Wallingford. p.392-410.

HOWELL, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87: 4-10.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S. & BISSETT, J. 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control* 5: 409–416.

HUANG, X.; ZHAO, N. & ZHANG, K. 2004. Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Research Microbiology* 155:811–816.

HUNT, D. J. & HANDOO, Z. A. 2009. Taxonomy, identification and principal species. *In*: Perry, M.; Moens, M. & Starr, J. L. (eds.). *Root-knot Nematodes*. CAB International. Cambridge – USA. p.1-17.

HUSSEY, R. S. & BARKER, K. R. 1973. Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025-1028.

HUSSEY, R. S. & JANSSEN, G. J. W. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. *In*: Starr, J. L.; Cook, R. & Bridge, J. (eds.). *Plant resistance to nematodes*. Biddles, Guildford and Kings Lynn, UK. p. 43-71.

IBGE. 2018. Estatística mensal da Produção Agrícola Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 81 p. https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/62ff13bdd3554efec8535a90712651b9.pdf . Consultado em: 20/11/2018.

IBGE. 2020. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado> . Consultado em 15/01/2020.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. P.T. & MELLO, S. C. M. 2014. Ação antagônica e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. *Summa Phytopathologica* 40: 34-41.

JANG, S.; KWON, S. L.; LEE, H.; JANG, Y.; PARK, M. S.; LIM, Y. W.; KIM, C. & KIM, J. J. 2018. New Report of Three Unrecorded Species in *Trichoderma harzianum* Species Complex in Korea. *Mycobiology* 1–8.

- JINDAPUNNAPAT, K.; CHINNASRI, B. & KWANKUAE, S. 2013. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. *Journal of Developments in Sustainable Agriculture* 8: 110-118.
- JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G. K.; KIKUCHI, T.; MANZANILLA-LÓPEZ, R.; PALOMARES-RIUS, J. E.; WESEMAEL, W. M. L. & PERRY, R. N. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 14: 946-961.
- LOBO JUNIOR, M. ; BRANDÃO, R. S. & GERALDINE, A. M. 2009. Produtividade do feijoeiro comum, em campo, em tratamentos com *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum*. Comunicado Técnico 184. Embrapa. Santo Antônio de Goiás – Goiás.
- KARSSSEN, G.; LIAO, J.; KAN, Z.; VAN HEESE, E. Y. J. & DEN NIJS, L. J. M. F. 2012. On the species status of the root-knot nematode *Meloidogyne mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988. *ZooKeys* 181: 67-77.
- KARSSSEN, G. & MOENS, M. Root-knot nematodes. 2006. *In*: Perry, R. N. & Moens, M. (eds.). *Plant Nematology*. CAB International. Wallingford. p. 59-90.
- KAUR, R.; BRITO, J. A. & RICH, J. R. 2007. Host suitability of selected weed species to five *Meloidogyne species*. *Nematropica* 37: 107–120.
- KHAN, Z. & KIM, Y. H. 2007. A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology* 35: 370-379.
- KIEWNICK, S.; DESSIMOZ, M. & FRANCK, L. 2009. Effects of the *Mi-1* and the *N* root-knot nematode-resistance gene on infection and reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and pepper cultivars. *Journal of Nematology* 41:134–139.
- KIRIGA, A. W.; HAUKELAND, S.; KARIUKI, G. M.; GOYNE, D. L. & BEEK, N. V. 2018. Effect of *Trichoderma* spp. and *Purpureocillium lilacinum* on *Meloidogyne javanica* in comercial pineapple production in Kenya. *Biological Control* 119: 27-32.
- KIRK, P. 2012. *Index Fungorum*. CABI Bioscience, CBS and Landcare Resarch, available online, ed. www.indexfungorum.org . Consultado em 21/10/2018.
- KNUDSEN, G. R.; ESCHEN, D. J.; DANDURAND, L. M. & BIN, L. 1991. Potential for biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* through colonization of sclerotia by *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 75: 466-470.
- KRUGER, T. L. & BACCHI, L. M. A. 1995. Fungos. *In*: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J. A. M. & Camargo, L. E. A. (eds.). *Manual de Fitopatologia*. 3ª ed. Agronômica Ceres. São Paulo. p.46–95.
- KULLNIG, C. M.; SZAKACS, G. & KUBICEK, C. P. 2000. Molecular identification of *Trichoderma* species from Russia, Siberia and the Himalaya. *Mycological Research* 104:1117-1125.

- LEONETTI, P.; ZONNO, M. C.; MOLINARI, S. & ALTOMARE, C. 2017. Induction of SA-signaling pathway and ethylene biosynthesis in *Trichoderma harzianum*-treated tomato plants after infection of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Cell Rep* 36:621-631.
- LI, J.; ZOU, C.; XU, J.; JI, X.; NIU, X.; YANG, J.; HUANG, X. & ZHANG, K. Q. 2015. Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions: basis for biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review Phytopathology* 53: 67-95.
- LOPES, C. A. & REIS, A. 2007. Doenças do tomateiro cultivado em ambiente protegido. Circular Técnica 100. Embrapa Hortaliças. Brasília - Distrito Federal.
- LOPES, E. A. & FERRAZ, S. 2016. Importância dos fitonematoides na agricultura. *In: Oliveira, C. M.; Santos, M. A. & Castro, L. H. S. (eds.). Diagnose de fitonematoides. Millennium. Campinas, Brasil. p. 71-93.*
- LOPEZ-LLORCA, L. V.; BORDALLO, J. J.; SALINAS, J.; MONFORT, E. & LÓPEZ-SERNA, M. L. 2002. Use of a light and scanning electron microscopy to examine colonization of barley rhizosphere by the nematophagous fungus *Verticillium clamydosporium*. *Micron* 33:61-67.
- LOPEZ-LLORCA, L. V.; MACIÁ-VICENTE, J. G. & JANSSON, H. B. 2008. Nematophagous fungi: Mode of action and interactions. *In: Ciancio, A & Mukherjee, K. G. (eds.). Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes. Springer. Dordrecht- Netherlands. p. 51-76.*
- LORDELLO, L. G. E. 1964. Contribuição ao conhecimento dos nematoides que causam galhas em raízes de plantas em São Paulo e estados vizinhos. *In: Anais da E. S. A. Luiz de Queiroz* 21: 180-218.
- LORITO, M.; HARMAN, G. E.; HAYES, C. K.; BROADWAY, R. M.; TRONSNO, A.; WOO, S. L. & DI PIETRO, A. 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidade. *Phytopathology*. 83: 302-307.
- LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E. & MONTE, E. 2010. Translational research on *Trichoderma*: from oomics to the field. *Annual Review Phytopathology* 48: 395-417.
- LUZ, J. M. Q.; SHINZATO, A. V. & SILVA, M. A. D. 2007. Comparação dos sistemas de produção de tomate convencional e orgânico em cultivo protegido. *Bioscience Journal* 23: 7-15.
- MACHADO, D. F. M.; TAVARES, A. P.; LOPES, S. J. & SILVA, C. F. S. 2015. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de camarã. (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). *Revista Árvore* 39: 167-176.
- MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. & ANTONIOLLI, Z. I. 2012. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. *Revista de Ciências Agrárias* 35: 274-288.
- MAGGENTI, A. 1981. *General Nematology*. Springer-Verlag. New York, Heidelberg. 372 p.

MAPA. 2019 a. <http://www.agricultura.gov.br/noticias/esclarecimentos-sobre-registros-de-defensivos-agricolas> . Consultado em 16/01/2020.

MAPA. 2019 b. <http://www.agricultura.gov.br/noticias/em-2019-94-5-dos-defensivos-agricolas-registrados-foram-produtos-genericos> . Consultado em 16/01/2020

MARIM, B. G.; SILVA, D. J. H.; GUIMARÃES, M. A. & BELFORT, G. 2005. Sistemas de tutoramento e condução do tomateiro visando produção de frutos para consumo *in natura*. Horticultura Brasileira 23: 951- 955.

MARTIN, J. P. 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plater method for estimating soil fungi. Soil Science 69:215- 232.

MATOS, E. S.; SHIRAHIGE, F. H. & MELO, P. C. T. 2012. Desempenho de híbridos de tomate de crescimento indeterminado em função de sistemas de condução de plantas. Horticultura Brasileira 30: 240-245.

MATTEDI, A. P.; SOARES, B. O.; ALMEIDA, V. S.; GRIGOLLI, J. F. J.; SILVA, L. J. & SILVA, D. J. H. 2007. *In*: Silva, D. J. H. & Vale, F. X. R. (eds.). Tomate: tecnologia de produção. UFV. Viçosa – Minas Gerais.

MCSORLEY, R. 1992. Nematological problems in tropical and subtropical fruit tree crops. Nematropica. 22: 103-116.

MEDEIROS, H. A.; ARAÚJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R. & MONTE, E. 2017. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. Scientific Reports 7, n. 40216.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M.; PÁDUA, R. R. & GOMES, D. 2007. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Fitosanidad 11: 3-9.

MENSIN, S.; SOYTONG, K.; McGOVERN, R. J. & TO-ANUN, C. 2012. Selection of efficient nematophagous fungi against root-knot nematodes in the highland cultivated area. Journal of Agricultural Technology 8: 2259-2272.

MEYER, S. L. F.; MASSOUD, S. I.; CHITWOOD, D. J. & ROBERTS, D. P. 2000. Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nematology 2: 871-879.

MOENS, M.; PERRY, R. N. & STAR, J. L. *Meloidogyne* species - a diverse group of novel and important plant parasites. *In*: Moens, M.; Perry, R. & Starr, J. L. (eds). 2009. Root-knot nematodes. CAB International. Wallingford. p. 1-17.

MOHAMED, H. A. L. A. & HAGGAG, W. M. 2006. Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. Brazilian Journal Microbiology 37:181-191.

MONTEIRO, C. S.; BALBI, M. E.; MIGUEL, O. G.; PENTEADO, P. T. P. S. &

HARACEMIV, S. M. C. 2008. Qualidade nutricional e antioxidante do tomate “tipo italiano”. Revista Alimentos e Nutrição 19: 25- 31.

MOREIRA, F. J. C.; ALBUQUERQUE, A. M.; ALMEIDA, B. K. S.; SOUZA, I. M.; ARAÚJO, B. A. & GUEDES, F. L. 2018. Reação de genótipos de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) ao nematoide das galhas (*Meloidogyne enterolobii*). Summa Phytopathologica 44: 380-385.

MOREIRA, F. J. C.; SANTOS, C. D. G.; INNECCO, R. & SILVA, G. S. 2015. Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo. Summa Phytopathologica 41: 207-213.

MOURA, A. P.; MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A. & LIZ, R. S. 2014. Manejo integrado de pragas do tomateiro para processamento industrial. Circular Técnica 129. Embrapa. Brasília – Distrito Federal.

MUKHTAR, T. 2018. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato with two *Trichoderma* species. Pakistan Journal of Zoology 50: 1589-1582.

NAIKA, S.; JEUDE, J. V. L.; GOFFAU, M.; HILMI, M. & DAM, B. V. 2006. A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização. Agrodok 17. Fundação Agromista e CTA. Digigraf. Wageningen.

NAWROCKA, J. & MAŁOLEPSA, U. 2013. Diversity in plant resistance induced by *Trichoderma*. Biological Control 67:14–156.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S. & BALDANI, J. I. 2003. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microorganismos sobre o crescimento vegetal. Seropédica: Embrapa Agrobiologia.

OOSTENBRINK, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mendelingen Landbouwhoghe school Wageningen 6:1-46.

PEDRO, E. A. S.; HARAKAVA, R.; LUCON, C. M. M. & GUZZO, S. S. 2012. Promoção de crescimento do feijoeiro e controle da antracnose por *Trichoderma* spp. Pesquisa Agropecuária Brasileira 47: 1589-1595.

PEIXOTO, G. H. S. 2020. Caracterização de isolados brasileiros de *Trichoderma*. 2020. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil.

PELAGIO-FLORES, R.; ESPARZA-REYNOSO, S.; GARNICA-VERGARA, A.; LÓPEZ-BUCIO, J. & HERRERA-ESTRELLA, A. 2017. *Trichoderma*-induced acidification is an early trigger for changes in *Arabidopsis* root growth and determines fungal phytostimulation. Frontiers Fungal Science 8:822.

PINHEIRO, J. B.; BOITEUX, L. S.; PEREIRA, R. B.; ALMEIDA, M. R. A. & CARNEIRO, R. M. D. G. 2014. Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil. Boletim Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Hortaliças. Brasília - Distrito Federal.

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F; RODRIGUES, C. S. &

- SUINAGA, F. A. 2013. Manejo de nematoides na cultura da alface. Circular Técnica 124. Embrapa. Brasília – Distrito Federal.
- RAMMAH, A. & HIRSCHMANN, H. 1988. *Meloidogyne mayaguensis* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode from Puerto Rico. *Journal of Nematology* 20: 58-69.
- RAVICHANDRA, N. G. 2014. Horticultural Nematology. Springer India. New Delhi. 412 p.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B.; NASS, L. L.; HENZ, G. P.; HEINRICH, G. A.; RIBEIRO, C. S. C.; EUCLIDES FILHO, K.; BOITEUX, L. S.; RITSCHER, P.; FERRAZ, R. M. & QUECINI, V. 2014. Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros. Infográficos. 1st ed. Brasília-Distrito Federal.
- ROBERTS, D. P.; LOHRKE, S. M.; MEYER, S. L. F.; BUYER, J. S.; BOWERS, J. H.; BAKER, C. J.; LI, W.; SOUZA, J. T.; LEWIS, J. A. & CHUNG, S. 2005. Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soilborne diseases of cucumber. *Crop Protection* 24: 141- 155.
- RODRIGUEZ, M. G.; GÓMEZ, L. & PETEIRA, B. 2007. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. *Revista Protección Vegetal* 22:183-198.
- ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N. & WILCKEN, S. R. S. 2014. Reação de genótipos e híbridos de tomateiro à *Meloidogyne enterolobii*. *Ciência Rural* 7:1166-1171.
- ROSA, J. M. O.; WESTERICH, J. N. & WILCKEN, S. R. S. 2015. Reprodução de *Meloidogyne enterolobii* em olerícolas e plantas utilizadas na adubação verde. *Revista Ciência Agronômica* 46: 826-835.
- SAHEBANI, N. & HADAVI, N. 2008. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology Biochemistry* 40:2016- 2020.
- SAIGUSA, T. 1957. On the egg development and its morphological observations of the root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 1: 238-243.
- SAMUELS, G. J. 1996. *Trichoderma*, a review of biology and sistematics of the genus. *Mycological Research* 100: 923-935.
- SANTIAGO, A.; GARCÍA-LÓPEZ, A. M.; QUINTERO, J. M.; AVILÉS, M. & DELGADO, A. 2013. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 and glucose addition on iron nutrition in cucumber grown on calcareous soils. *Soil Biology Biochemistry* 57:598–605.
- SANTIAGO, A.; QUINTERO, J. M.; AVILÉS, M. & DELGADO, A. 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on iron, copper, manganese, and zinc uptake by wheat grown on a calcareous medium. *Plant Soil* 342: 97–104.
- SANTIN, R. C. M. 2008. Potencial do uso dos fungos *Trichoderma* spp. e *Paecilomyces lilacinus* no biocontrole de *Meloidogyne incognita* em *Phaseolus vulgaris*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil.

SARIAH, M.; CHOO, C. W.; ZAKARIA, H. & NORIHAN, M. S. 2005. Quantification and characterisation of *Trichoderma* spp. from different ecosystems. *Mycopathologia* 159:113-117.

SASSER, J. N. 1980. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. *Plant Disease* 64: 36-41.

SBN. 2017. <https://nematologia.com.br/> . Consultado 20/12/2018.

SCHNEIDER, S. M.; ROSSKOKF, E. N.; LEESCH, J. G.; CHELLEMI, D. O.; BULL, C. T. & MAZZOLA, M. 2003. United States Department of Agriculture - Agricultural research service research on alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest. *Pest Management Science* 59: 814–826.

SEGARRA, G.; CASANOVA, E.; AVILÉS, M. & TRILLAS, I. 2010. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. *Microbial Ecology* 59:141–149.

SELIM, M. E.; MAHDY, M. E.; SORIAL, M. E.; DABABAT, A. A. & SIKORA, R. A. 2014. Biological and chemical dependent systemic resistance and their significance for the control of root-knot nematodes. *Nematology* 16:917–927.

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

SHARON, E.; CHET, I. & SPIEGEL, Y. 2009. Improved attachment and parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* *in vitro*. *European Journal of Plant Pathology* 123: 291-299.

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

SHORESH, M.; HARMAN, G. E. & MASTOURI, F. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review Phytopathology* 48:21-43.

SIDDIQI, M. R. 2000. *Tylenchida Parasites of Plants and Insects*. CAB International. Wallingford.

SIKORA, R. A. & FERNANDEZ, E. 2004. Nematode parasites of vegetables. *In*: Chen, Z.; Chen, S.; Dickson, D. W. (eds.). *Nematology – Advances and Perspectives: Nematode Management and Utilization*. Tsinghua University & CABI Publishing. Beijing & Wallingford. v.2, p.319-392.

SILVA, J. B. C. & GIORDANO, L. B. 2000. Tomate para processamento industrial. Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças. Brasília – Distrito Federal.

- SILVA, J. C. P.; TERRA, W. C.; FREIRE, E. S.; CAMPOS, V. P. & CASTRO, J. M. C. 2014. Aspectos gerais e manejo de *Meloidogyne enterolobii*. In: Freitas, A. S.; Dornelas, G. A.; Silva, J. C. P.; Salum, L. A.; Pimenta, L.; Pedroso, L. A.; Faria, M. D. R.; Paula, P. V. A. A. & Martins, S. A. (eds.). Sanidade de raízes. 1^a ed. Suprema. São Carlos, São Paulo. p.59-74.
- SILVA, G. B. P.; HECKLER, L. N.; SANTOS, R. F.; DURIGON, M. R. & BLUME, E. 2015. Identificação e utilização de *Trichoderma* spp. armazenados e nativos no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*. Revista Caatinga 28: 33-42.
- SILVA, S. D. S.; CARNEIRO, R. M. D. G.; FARIA, M.; SOUZA, D. A.; MONNERAT, R. G. & LOPES, R. B. 2017. Evaluation of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* for suppression of *Meloidogyne enterolobii* on tomato and banana. Journal of Nematology 49: 77-85.
- SILVA, V. N.; GUZZO, S. D.; LUCON, C. M. M. & HAKAKAVA, R. 2011. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46: 1609-1618.
- SINGH, S. K.; HODDA, M. & ASH, G. J. 2013. Plant-parasitic nematodes of potencial phytosanitary importance, their main host and reported yield losses. Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin 43: 334-374.
- SLUTSKY, M.; LEVIN, J. L. & LEVY, B. S. 1999. Azoospermia and oligospermia among a large cohort of DBCP applicators in 12 countries. International Journal of Occupational and Environmental Health 5:116-122.
- SOFO, A.; TATARANNI, G.; XILOYANNIS, C.; DICHIO, B. & SCOPA, A. 2012. Direct effects of *Trichoderma harzianum* strain T-22 on micropropagated shoots of GiSeLa6R (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*) rootstock. Environmental and Experimental Botany 76: 33-38.
- SOUZA, E. A.; SANTOS, D. G.; SOUZA, K. N. D.; BATISTA, K. A. & LOPES, F. M. 2012. Controle microbiológico de produto industrializado a base de tomate. Revista de Biotecnologia & Ciências 1-72-86.
- SPIEGEL, Y. & CHET, I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. Integrated Pest Management Reviews 3: 169- 175.
- SPIEGEL, Y.; SHARON, E. & CHET, I. 2005. Mechanisms and improved biocontrol of the root-knot nematodes by *Trichoderma* spp. Acta Horticulturae 698: 225-228.
- STIRLING, G. R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects. CAB International. Wallingford - United Kingdom.
- SUAREZ, B.; REY, M.; CASTILLO, P.; MONTE, E. & LLOBELL, A. 2004. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematocidal activity. Appl Microbiol Biot 65: 46-55.

- SZABÓ, M.; CSEPREGI, K.; GÁLBER, M.; VIRÁNYI, F. & FEKETE, C. 2012. Control plant-parasitic nematodes with *Trichoderma* species and nematode-trapping fungi: The role of chi18-5 and chi18-12 genes in nematode egg-parasitism. *Biological Control* 63:121–28.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2006. *Fisiologia vegetal*. 3rd ed. Artmed. Porto Alegre.
- TAYLOR, A. L. & SASSER, J. N. 1983. *Biología, identificación y control de los nematodos del nódulo de la raíz (Meloidogyne sp.)*. Universidad del Estado de Carolina del Norte. Carolina del Norte.
- TIGANO, M.; de SIQUEIRA, K.; CASTAGNONE-SERENO, P.; MULET, K.; QUEIROZ, P.; DOS SANTOS, M.; TEIXEIRA, C.; ALMEIDA, M.; SILVA, J. & CARNEIRO, R. 2010. Genetic diversity of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* and development of a SCAR marker for this guava-damaging species. *Plant Pathology* 59: 1054-1061.
- TORRES, G. R. C.; MEDEIROS, H. A.; SALES, J. R. & MOURA, R. M. 2007. *Meloidogyne mayaguensis*: Novos assinalamentos no Rio Grande do Norte associados à goiabeira. *Revista Caatinga* 20:106–112.
- TORRES, G. R. C.; SALES, J. R.; NERIVÂNIA, V.; REHN, C.; PEDROSA, E. M. R. & MOURA, R. M. 2005. Ocorrência de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no estado do Ceará. *Nematologia Brasileira* 29: 105-107.
- TRUDGILL, D. L. & BLOK, V. C. 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: Exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review Phytopathology* 39:53–77.
- VIGILATO, H. P. 1988. *O Plantio do Tomate e sua comercialização*. Editora TecnoPrint S.A.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L. & LORITO, M. 2008. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72: 80–86.
- WANDERLEY, M. J. A. & SANTOS, J. M. 2004. Resistência de cultivares de batata-doce a *Meloidogyne incognita*. *Fitopatologia Brasileira* 29- 437-440.
- WANG, J.; WANG, J.; LIU, F. & PAN, C. 2010. Enhancing the virulence of *Paecilomyces lilacinus* against *Meloidogyne incognita* eggs by overexpression of a serine protease. *Biotechnol Lett* 32:1159–1166.
- WEINDLING, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of others soil fungi. *Phytopathology* 22:837-845.
- WILLIAMSON, V. M. & KUMAR, A. 2006. Nematode resistance in plants: The battle underground. *Trends Genetics* 22: 396-403.
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MAGANIELLO, G. & LORITO, M. 2014. *Trichoderma* - based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal* 8: 71 –

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M. & LORITO, M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology* 96:181–85.

XU, J.; LIU, P.; MENG, Q. & LONG, H. 2004. Characterization of *Meloidogyne* species from China using isozyme, phenotypes and amplified mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. *European Journal of Plant Pathology* 110: 309–15.

ZAMBOLIM, L. 2010. Proteção de planta: Manejo Integrado de Doenças de Plantas. Viçosa-Minas Gerais.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. & COSTA, H. 2000. Controle de Doenças de Plantas. Hortaliças. v.2. Suprema Gráfica e Editora Ltda. UFV. Viçosa – Minas Gerais.

ZHANG, K. Q. & HYDE, K. D. 2014. Nematode-Trapping Fungi. Springer. Dordrecht - Netherlands.

ZHANG, S.; GAN, Y.; JI, W.; XU, B.; HOU, B. & LIU, J. 2017. Mechanisms and characterization of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in suppressing nematodes (*Heterodera avenae*) in wheat. *Frontiers in Plant Science* 8:1491.