



Utilização de fungos benéficos na formação de mudas de goiabeira em solos infestados com nematoides

Adriana de Abreu SILVA^{1*}, Ivan Vilas Bôas SOUZA¹, John Silva PORTO¹,
Abel Rebouças SÃO JOSÉ¹

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, BA, Brasil.
(ORCID: *; 0000-0001-8064-2449; 0000-0003-4065-7210; 0000-0002-3179-243X)

*E-mail: adrianaabreu.agronomia@gmail.com (ORCID: 0000-0001-7185-209X)

Recebido em 02/04/2019; Aceito em 04/02/2020; Publicado em 13/04/2020.

RESUMO: O nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) tem sido um fator limitante ao cultivo da goiabeira no Brasil, pois restringe a produção e a qualidade dos frutos. O controle biológico vem sendo empregado para suprimir nematoides fitopatogênicos e a inoculação com *Trichoderma* spp. e *Pochonia chlamydosporia* é um método promissor, contudo poucas pesquisas são relatadas com estes fungos à cerca da cultura da goiabeira. Objetivou-se avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Pochonia chlamydosporia* na modulação morfológica do crescimento inicial de mudas de goiabeira 'Paluma' em solo naturalmente infestado com *Meloidogyne* spp. A pesquisa ocorreu na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Campus de Vitória da Conquista - BA em telado experimental. Foram realizadas as análises morfológicas altura da planta, diâmetro do caule, comprimento de raízes, massa fresca e seca da parte aérea e das raízes. Foi possível observar que os fungos de biocontrole não foram eficientes na supressão dos nematoides juvenis durante o período de avaliação, no entanto a inoculação com *Trichoderma harzianum*, promoveu incremento nas massas fresca e seca da parte aérea e na massa seca das raízes, *Pochonia chlamydosporia* mostrou-se menos eficiente quanto a promoção de crescimento inicial das mudas quando comparadas a *Trichoderma* spp.

Palavras-chave: *Psidium guajava*; *Trichoderma* spp.; *Pochonia* spp.; *Meloidogyne* spp.

Use of beneficial fungi in development of guava seedlings in nematodes infested soils

ABSTRACT: Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) has been a limiting factor to growing guava in Brazil since it restricts yield and fruit quality. Biological control has been employed to suppress phytopathogenic nematodes. The inoculation with *Trichoderma* spp. and *Pochonia chlamydosporia* is a promising method; however, studies on the impact of these fungi on guava trees are lacking. This work aimed to assess the efficiency of *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* and *Pochonia chlamydosporia* in morphological modulation at the early development of 'Paluma' guava seedlings grown on a soil naturally infested by *Meloidogyne* spp. The study took place at the State University of Southeastern Bahia – UESB, campus Vitória da Conquista, Bahia state, Brazil, in a net house. The following morphological traits were evaluated: plant height, stem diameter, root length, and fresh and dry weights of shoots and roots. These fungi as biocontrol agents were not efficient in suppressing juvenile nematodes over the evaluation period; nonetheless, inoculation with *Trichoderma harzianum* increased fresh and dry weights of shoot as well a root dry weight. *Pochonia chlamydosporia* was less efficient in promoting the early development of seedlings compared to *Trichoderma* spp.

Keywords: *Psidium guajava*; *Trichoderma* spp.; *Pochonia* spp.; *Meloidogyne* spp.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo da goiabeira é realizado em diversos países, especialmente em regiões tropicais e subtropicais do globo. De acordo ao IBGE, em 2018 o Brasil produziu 578.608 toneladas da fruta, com área colhida estimada em 21.500 hectares (IBGE, 2018).

Dentre as doenças que causam distúrbios ao cultivo da goiabeira, tem-se a meloidoginose, doença considerada atualmente o principal problema fitossanitário enfrentado nos pomares de goiaba em todo o território brasileiro, pois reduz drasticamente a produtividade da cultura, podendo ocorrer a morte da planta. Produtos formulados com ingredientes ativos biológicos são avaliados no setor frutícola

como método alternativo ao químico, afim de não agredir o meio ambiente (MARTINS et al., 2013; LOPES et al., 2018).

Devido à crescente demanda populacional por produtos livres de resíduos químicos, o controle biológico constitui uma alternativa promissora, e a utilização de fungos promotores de crescimento e antagonistas vem se destacando nas pesquisas (BENAVIDES et al., 2016; SABANDO-ÁVILA et al., 2017).

Os fungos benéficos como *Trichoderma* spp. quando estabelecidos no sistema solo-planta contribuem positivamente para as culturas, uma vez que promovem o crescimento vegetal, induzem a resistência a doenças, além de disponibilizar micronutrientes (ADAK, 2016). O incremento

vegetal é promovido pela ação do fungo que desencadeia mecanismos de ação nos vegetais como a liberação de compostos voláteis. *Trichoderma* é aplicado ao solo e pode penetrar ovos e fêmeas de nematoides fitopatogênicos, atuando como agente de supressão populacional (TAIZ; ZEIGER, 2013; AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016).

De acordo Paz et al. (2015) a utilização de *Pochonia chlamydosporia* na cultura da goiabeira promove o desenvolvimento vegetal, além de ser uma alternativa ambientalmente segura, economicamente acessível e de fácil aplicação. Bontempo et al. (2017) atribui ao isolado de *Pochonia chlamydosporia* a redução populacional de *Meloidogyne incognita*, apontando a bactéria como potencial agente biológico para controle de nematoides.

Em função do exposto e como parte do estudo para tornar mais amplo o conhecimento da cultura da goiabeira, objetivou-se avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Pochonia chlamydosporia* na modulação morfológica do crescimento inicial de mudas de goiabeira 'Paluma' e no controle de *Meloidogyne* spp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local e período de realização do estudo

O experimento foi conduzido em telado de sombrite situado no Campo Agropecuário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, no município de Vitória da Conquista, Bahia, localizada nas coordenadas 14°53'08" de latitude Sul e 40°48'02" de longitude Oeste, a uma altitude de 870 metros.

A Figura 1, indica as médias de temperatura registradas na estação meteorológica da UESB nos meses em que se realizou a pesquisa.

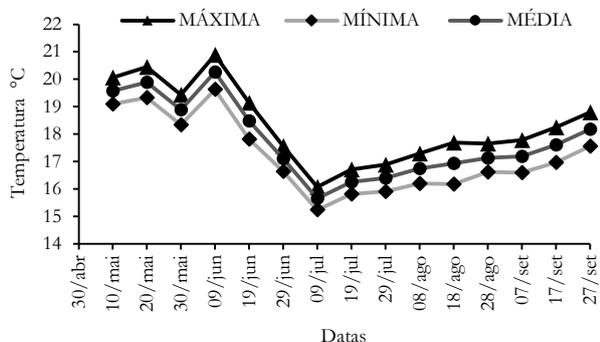


Figura 1. Temperaturas médias registradas na estação meteorológica da UESB durante o período experimental, Vitória da Conquista, UESB, 2018.

Figure 1. Mean temperatures recorded at the UESB meteorological station during the experimental period, Vitória da Conquista, UESB, 2018.

As mudas de goiabeiras utilizadas na pesquisa foram adquiridas de viveiro certificado no Instituto Biofábrica de cacau da CEPLAC, localizado no Município de Uruçuca-BA, produzidas através de estacas enraizadas semilenhosas. As mudas apresentavam aproximadamente 15 cm de altura inseridas em tubetes de polietileno com substrato inerte vermiculita.

O solo utilizado no experimento foi coletado na Fazenda Bela Vista, a qual possui área de produção comercial de goiabeira com histórico de meloidoginose, localizada no município de Tanhaçu - BA, com as coordenadas geográficas

de 13°58'40,4" de latitude Sul e 41°16'42,1" de longitude Oeste de Greenwich. De acordo a análise química possui pH igual a 8, teor de P de 8 mg/dm³, cada cmol/dm³ de solo contém 0,18 de K, 3,6 de Ca, 1,1 de Mg, 0,0 de Al, 0,6 de H, 4,9 de SB, 4,9 de t, 5,5 de T, V igual a 89% e 6g/dm³ de matéria orgânica.

2.2. Delineamento experimental, tratamentos e variáveis analisadas

Após a obtenção do genótipo de goiabeira 'Paluma' foram preenchidas 96 sacolas de polietileno que apresentavam as seguintes dimensões: 20x35x0,20cm, sendo 48 sacolas com solo autoclavado em autoclave Vertical CS (fabricante Prismatec) a 120 °C durante uma hora em três dias consecutivos e outras 48 sacolas com solo contaminado.

Após o preenchimento das sacolas as mudas foram transplantadas e retirou-se do solo uma camada em torno de 5 centímetros a partir da superfície para serem inoculados *Trichoderma harzianum* (isolado Biofungi TH 01), *Trichoderma longibrachiatum* (isolado Biofungi TL 01), *Pochonia chlamydosporia* (isolado Biofungi Pc 02) com 2 x 10⁸ UFC g⁻¹ em todas as amostras e uma testemunha, que não foi inoculada. Na inoculação, realizou-se uma aplicação de 100 mL de solução (25 g de arroz colonizado com cada fungo diluídos em 2,5 litros de água) com os fungos benéficos em cada muda, numa concentração de 1 g de fungo/100 mL de água.

O delineamento experimental foi realizado em formato inteiramente casualizado (DIC) com 8 tratamentos e 3 repetições, dispostos em fatorial duplo (4 x 2), onde foram testados três agentes biológicos (fungos benéficos) e testemunha (sem inoculação de agente biológico) em dois substratos (solo autoclavado e solo contaminado).

O experimento foi instalado no mês de maio e as avaliações realizadas a cada 30 dias nos quatro meses subsequentes (junho a setembro), sendo avaliadas 3 mudas de cada tratamento nas respectivas épocas, 12 mudas com solo autoclavado e 12 mudas com solo contaminado e seus respectivos agentes biológicos, perfazendo 48 mudas com solo autoclavado e 48 com solo contaminado.

Foram realizadas as avaliações das características morfológicas como altura da planta através de régua graduada, diâmetro do caule com auxílio de paquímetro digital, comprimento de raízes também por meio de régua graduada, massa fresca da parte aérea e raízes utilizando balança eletrônica, massa seca da parte aérea e raízes realizada por meio da secagem dos tratamentos amostrados em estufa de ventilação forçada a 65 °C por um período de 72 horas.

O índice relativo de clorofila (SPAD) presente nas folhas de goiaba foi determinado a cada 30 dias. Desde o início do experimento, em março, até a última avaliação realizada em setembro, foram efetuadas 4 leituras com aparelho ClorofiLOG CFL 1030 (fabricante Falker). O índice relativo de clorofila foi mensurado por meio de oito leituras em duas folhas (quatro leituras em cada folha) de cada muda, localizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas a partir do ápice.

O método para se extrair os nematoides das amostras foi de acordo aquele descrito por Jenkins (1964), tecnicamente chamado de método do peneiramento combinado à flotação em centrífuga com solução de sacarose. Os dados foram submetidos a análise de variância a 5% de probabilidade. Foram testados quanto a normalidade pelo teste de Lilliefors

e homogeneidade pelo teste de Bartlett de variâncias. Na contagem dos nematoides, optou-se pela transformação dos dados em $\log(x + 2)$.

3. RESULTADOS

3.1. Avaliação das características morfológicas

Na avaliação do experimento, apenas a característica diâmetro do caule (DC), apresentou interação significativa entre os fatores solo (S) e fungos inoculados (F) no mês de setembro. Quando se avaliou o desdobramento da interação dos solos em cada fungo estudado, observou-se que no mês de setembro para a variável diâmetro do caule (DC), os tratamentos testemunha e *Pochonia chlamydosporia* apresentaram diferença entre os solos, onde o solo contaminado apresentou menor valor de diâmetro do caule (DC) que o solo autoclavado para estes tratamentos. (Tabela 1). Para o desdobramento da interação dos fungos dentro do fator solo, houve diferença significativa para o mês de setembro em solo autoclavado, onde o tratamento com aplicação de *T. harzianum* apresentou menor diâmetro do caule (DC) dentre os fungos estudados, sem, contudo, apresentar diferenças em relação ao *T. longibrachiatum*.

Tabela 1. Desdobramento da interação (S x F) entre os tratamentos solo (S), fungos inoculados (F) e testemunha (sem inoculação) em mudas de goiabeira 'Paluma' inoculadas com *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia*, para a variável diâmetro do caule (DC) em centímetros, no mês de setembro.

Table 1. Deployment of the interaction (S x F) between treatments (S), inoculated fungi (F) and control (without inoculation) in 'Paluma' guava seedlings inoculated with *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia*, for the stem diameter variable (DC) in centimeters, in September.

Tratamentos	Solo Autoclavado	Solo Contaminado
<i>T. harzianum</i>	4,67 Ab	5,61Aa
<i>T. longibrachiatum</i>	5,90 Aab	5,03Aa
<i>P. chlamydosporia</i>	7,66 Aa	5,15Ba
Testemunha	6,28 Aab	4,06Ba

Letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem pelo teste Tukey (P>0,05).

Para a variável diâmetro do caule (DC), não houve diferenças significativas entre os fungos inoculados e testemunha nos meses que a pesquisa foi desenvolvida. Já para os solos estudados, houve diferença significativa no mês de agosto e setembro, onde o solo contaminado apresentou menor diâmetro de caule quando comparado ao solo autoclavado (Tabela 2). Não foram encontradas diferenças significativas para a variável agrônômica altura da planta (AP) entre os fungos inoculados e testemunha, nas mudas de goiabeira nos meses em que se realizou a pesquisa.

Ao avaliar a variável altura de plantas (AP) nos diferentes substratos, foi possível observar que em solo contaminado, as plantas tiveram altura reduzida nos meses de julho, agosto e setembro se comparadas aquelas plantadas em solo autoclavado (Tabela 2). Não foram encontradas diferenças significativas entre os fungos e a testemunha para a variável agrônômica comprimento de raízes (CR). Foi possível notar nos meses de junho e julho que o solo autoclavado apresentou menores comprimentos de raíz (CR).

Tabela 2. Diâmetro do caule (DC) em centímetros, altura da planta (AP) em centímetros, comprimento de raiz (CR) em centímetros, das mudas de goiabeira 'Paluma' inoculadas com *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* e testemunha (sem inoculação) em solo autoclavado e solo contaminado em relação a cada mês.

Table 2. Diameter of stem (DC) in centimeters, plant height (AP) in centimeters, root length (CR) in centimeters of 'Paluma' guava seedlings inoculated with *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* and control (without inoculation) in autoclaved soil and contaminated soil in relation to each month.

Diâmetro do caule (DC) (cm)				
Fatores	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Fungos				
<i>T. harzianum</i>	4,2a	4,43a	4,67a	5,14a
<i>T. longibrachiatum</i>	4,1a	4,41a	4,67a	5,47a
<i>P. chlamydosporia</i>	4,3a	4,41a	4,92a	6,41a
Testemunha	4,3a	4,40a	4,47a	5,17a
Solo				
Autoclavado	4,3a	4,41a	4,86a	6,13a
Contaminado	3,9a	4,40a	4,50b	4,96b
CV (%)	17,40	0,29	14,76	19,13
Altura da planta (AP) (cm)				
Fungos				
<i>T. harzianum</i>	19,69a	23,39a	28,25a	30,25a
<i>T. longibrachiatum</i>	18,94a	21,78a	26,13a	27,92a
<i>P. chlamydosporia</i>	19,19a	22,55a	26,71a	32,25a
Testemunha	19,56a	22,72a	29,92a	29,92a
Solo				
Autoclavado	19,48a	24,39a	31,29a	35,41a
Contaminado	19,21a	20,83b	24,21b	24,75b
CV (%)	15,50	13,26	17,06	25,88
Comprimento de raiz (CR) (cm)				
Fungos				
<i>T. harzianum</i>	27,16a	28,67a	31,58a	35,50a
<i>T. longibrachiatum</i>	25,17a	26,17a	32,08a	33,58a
<i>P. chlamydosporia</i>	24,91a	28,58a	32,00a	33,67a
Testemunha	21,92a	24,00a	29,50a	32,83a
Solo				
Autoclavado	21,83b	23,54b	33,71a	31,83a
Contaminado	27,75a	28,67a	33,87a	35,96a
CV (%)	18,41	17,51	23,80	14,60

Letras minúsculas iguais nas colunas, dentro de cada fator das características avaliadas, não diferem pelo teste Tukey (P>0,05).

3.2 Avaliação do índice relativo de clorofila

As mudas de goiabeira apresentaram diferença significativa no índice SPAD no mês de junho em relação aos fungos avaliados, no qual a inoculação com *Trichoderma harzianum* apresentou maior índice SPAD, enquanto aquelas mudas inoculadas com *T. longibrachiatum* demonstraram menor índice para esse mês (Tabela 3). Quanto aos substratos utilizados na pesquisa, notou-se diferença em solo contaminado, que obteve índice SPAD inferior ao solo autoclavado, nos meses de junho, julho, agosto e setembro.

3.3 Avaliação das massas fresca e seca

Na avaliação da massa fresca da parte aérea (MFPA) para o mês de agosto foi observada diferença significativa dos resultados obtidos pela inoculação, em que o tratamento com aplicação da espécie *Trichoderma harzianum* promoveu maior MFPA e, testemunha obteve menor MFPA. Em solo

contaminado a MFPA foi inferior para os meses de julho, agosto e setembro se comparado ao solo autoclavado (Tabela 4). Para a variável massa fresca de raízes (MFR) não foram observadas diferenças estatísticas entre os fungos inoculados e testemunha nos meses de avaliação.

Tabela 3. Valores médios de índice SPAD (IS) das folhas de goiabeira 'Paluma' inoculadas com *Trichoderma barzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* e testemunha, submetidos a diferentes substratos (solo autoclavado e solo contaminado) em relação a cada mês.

Table 3. Mean values of SPAD (IS) index of 'Paluma' guava leaves inoculated with *Trichoderma barzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* and control, submitted to different substrates (autoclaved soil and contaminated soil) in relation to each month.

Avaliações	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Fungos				
<i>T. barzianum</i>	38,97a	44,3a	36,09a	28,05a
<i>T. longibrachiatum</i>	34,52b	39,3a	34,63a	29,85a
<i>P. chlamydosporia</i>	38,13ab	41,3a	35,77a	26,39a
Testemunha	36,53ab	42,8a	38,63a	27,61a
Solo				
Autoclavado	40,23 a	47,3a	41,11a	30,12a
Contaminado	33,84 b	36,5b	31,45b	25,83b
CV (%)	7,24	8,60	13,44	10,54

Letras minúsculas iguais nas colunas, dentro de cada fator, não diferem pelo teste Tukey ($P>0,05$).

Pode ser verificada diferença significativa nos solos utilizados como substrato para a variável MFR para o mês de junho, onde o solo autoclavado obteve menor MFR, em setembro a MFR foi menor em solo contaminado. A variável massa seca da parte aérea (MSPA) se mostrou significativa para o mês de agosto em relação aos fungos inoculados e testemunha, onde *Trichoderma barzianum* apresentou maior MSPA e *Pochonia chlamydosporia* e a testemunha apresentaram menores valores. Quando se avaliou os solos e sua influência sobre o MSPA foi observado que no mês de julho, agosto e setembro o solo contaminado apresentou menor MSPA.

A análise realizada a partir da massa seca de raízes (MSR) apontou para diferença existente entre os tratamentos com fungos inoculados e testemunha no mês de julho, em que o tratamento com aplicação de *Trichoderma barzianum* apresentou maior valor de MSR e o tratamento testemunha o menor valor.

No mês de junho verificou-se a menor MSR em solo autoclavado, e no mês de setembro o solo contaminado foi o que deteve menor massa seca de raízes (Tabela 4).

3.4 Avaliação dos nematoides nas amostras de solo

Ao avaliar os nematoides fitopatogênicos mortos (NFM), observou-se que não houve diferença significativa entre os fungos inoculados e testemunha, assim como também não foi observada diferença significativa entre os solos e os nematoides fitopatogênicos mortos (NFM) (Tabela 5).

Para a variável nematoides fitopatogênicos vivos (NFV), não foi constatada diferença entre os fungos inoculados e testemunha, da mesma maneira que não foram observadas diferenças significativas para os diferentes substratos durante o período de realização de coleta de dados para a pesquisa, a presença de nematoides após a autoclavagem sugere um maior período de autoclavagem das amostras de solo.

Tabela 4. Massa fresca da parte aérea (MFPA) em gramas por planta, massa fresca das raízes (MFR) em gramas por planta, massa seca da parte aérea (MSPA) em gramas por planta, massa seca das raízes (MSR) em gramas por planta das mudas de goiabeira 'Paluma' inoculadas com *Trichoderma barzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* e testemunha (sem inoculação) em solo autoclavado e solo contaminado em relação a cada mês.

Table 4. Fresh weight of aerial part (MFPA) in grams per plant, fresh root weight (MFR) in grams per plant, dry weight of shoot (MSPA) in grams per plant, root dry weight (MSR) in grams per plant of 'Paluma' guava seedlings inoculated with *Trichoderma barzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* and control (without inoculation) in autoclaved soil and contaminated soil in relation to each month.

Massa fresca da parte aérea (MFPA) em gramas por planta				
Fatores	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Fungos				
<i>T. barzianum</i>	7,82a	12,20a	20,30a	23,05a
<i>T. longibrachiatum</i>	8,28a	12,15a	18,21ab	23,32a
<i>P. chlamydosporia</i>	7,10a	12,78a	16,23ab	23,17a
Testemunha	6,92a	10,88a	14,63b	20,37a
Solo				
Autoclavado	8,39a	14,56a	22,24a	29,55a
Contaminado	6,67a	9,45b	13,82b	14,03b
CV (%)	31,85	29,47	23,64	25,35

Massa fresca das raízes (MFR) em gramas por planta				
Fungos	Junho	Julho	Agosto	Setembro
<i>T. barzianum</i>	10,05a	11,78a	12,4a	16,37a
<i>T. longibrachiatum</i>	7,42a	7,98a	12,10a	19,18a
<i>P. chlamydosporia</i>	6,82a	9,02a	10,52a	18,17a
Testemunha	6,55a	6,15a	16,17a	18,00a
Solo				
Autoclavado	6,54b	7,58a	14,01a	23,23a
Contaminado	8,83a	9,88a	11,61a	12,62b
CV (%)	29,98	42,09	32,28	27,76

Massa seca da parte aérea (MSPA) em gramas por planta				
Fungos	Junho	Julho	Agosto	Setembro
<i>T. barzianum</i>	2,64a	4,13a	7,35a	7,90a
<i>T. longibrachiatum</i>	2,62a	3,67a	5,85ab	9,83a
<i>P. chlamydosporia</i>	2,39a	4,42a	5,12b	6,46a
Testemunha	2,04a	2,92a	4,73b	8,32a
Solo				
Autoclavado	2,61a	4,63a	7,32a	9,62a
Contaminado	2,24a	2,93b	4,21b	6,63b
CV (%)	35,88	27,16	20,62	41,89

Massa seca das raízes (MSR) em gramas por planta				
Fungos	Junho	Julho	Agosto	Setembro
<i>T. barzianum</i>	1,56a	2,30a	2,75a	2,86a
<i>T. longibrachiatum</i>	1,13a	1,47ab	2,10a	2,20a
<i>P. chlamydosporia</i>	1,03a	1,65ab	2,03a	1,64a
Testemunha	0,98a	1,23b	1,72a	2,45a
Solo				
Autoclavado	0,98b	1,58a	2,39a	3,01a
Contaminado	1,36a	1,74a	1,91a	1,27b
CV (%)	33,90	33,26	30,14	64,13

Letras minúsculas iguais nas colunas, dentro de cada fator das características avaliadas, não diferem pelo teste Tukey ($P>0,05$).

Tabela 5. Média do número de nematoides fitopatogênicos mortos (NFM) e vivos (NFV) de segundo instar (J2) nas mudas de goiabeira 'Paluma' inoculadas com *Trichoderma barzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* e testemunha em dois substratos (solo autoclavado e solo contaminado).

Table 5. Mean number of second instar nematodes (NFM) and (NFV) of second instar (J2) in 'Paluma' guava seedlings inoculated with *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Pochonia chlamydosporia* and control on two substrates (autoclaved soil and contaminated soil).

Média de nematoides fitopatogênicos mortos (NFM)				
Fatores	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Fungos				
<i>T. harzianum</i>	0,71a	0,52a	0,71a	0,63a
<i>T. longibrachiatum</i>	1,04a	0,65a	0,38a	0,76a
<i>P. chlamydosporia</i>	0,80a	0,81a	0,76a	0,55a
Testemunha	0,98a	0,80a	0,63a	0,75a
Solo				
Autoclavado	1,02a	0,61a	0,63a	0,65a
Contaminado	0,73a	0,78a	0,61a	0,69a
CV (%)	38,32	37,43	52,49	34,22
Média de nematoides fitopatogênicos vivos (NFV)				
Fungos				
<i>T. harzianum</i>	0,70a	0,66a	0,60a	0,74a
<i>T. longibrachiatum</i>	0,77a	0,76a	0,39a	0,55a
<i>P. chlamydosporia</i>	0,76a	0,75a	0,38a	0,60a
Testemunha	0,77a	0,87a	0,44a	0,41a
Solo				
Autoclavado	0,86a	0,73a	0,54a	0,50a
Contaminado	0,64a	0,78a	0,39a	0,61a
CV (%)	39,92	30,94	32,61	49,30

Letras minúsculas iguais nas colunas, dentro de cada fator das características avaliadas, não diferem pelo teste Tukey (P>0,05).

4. DISCUSSÃO

O resultados encontrados na pesquisa estão em conformidade com Machado et al. (2015), no qual afirma que os fungos promotores de crescimento são bastante específicos e podem variar conforme o ambiente e o substrato em que são inoculados, variam também pela disponibilidade de nutrientes e pela interferência de outros fungos, desta maneira avaliar o substrato esterilizado e o substrato não esterilizado é substancial, afim de se conhecer a resposta dos isolados nos diferentes ambientes em que foram inoculados.

Nos meses de avaliação, não foram constatadas temperaturas adequadas ao antagonismo de *Trichoderma* e *Pochonia* para supressão dos nematoides (Figura 1), os dados corroboram com os resultados estatísticos encontrados, apontando a temperatura como fator limitante para os fungos inoculados. Pois de acordo Fipke et al. (2015), a ação do antagonismo ocorre na faixa de 22°C a 30°C, sobretudo, na maior temperatura e temperaturas em torno de 15 °C, inibe o seu antagonismo. De acordo com a Figura 1, as temperaturas nos meses de avaliação foram propícias ao desenvolvimento dos nematoides e influenciou negativamente na esporulação e eficiência dos antagonistas aos nematoides.

Atribui-se ao menor diâmetro do caule (DC) nos meses de agosto e setembro à maior proliferação de nematoides no solo, uma vez que a população se eleva pelas temperaturas mais altas, chuvas e raízes abundantes no fim do inverno e início das estações primavera-verão (DINARDO-MIRANDA et al., 2008), conferindo as mudas um diâmetro reduzido pela maior infestação.

A altura das plantas (AP) foi influenciada pela presença dos nematoides em solo contaminado, uma vez que se apresentaram menores alturas para este substrato, pois uma

vez parasitada pelos nematoides das galhas, a cultura sofre declínio em seu desenvolvimento. Estes organismos ocasionam deformações e subdesenvolvimento radicular, provocando menor absorção de água e nutrientes, tendo como consequência um menor desenvolvimento da planta (TIHOHOD, 2000), assim a presença de nematoides no solo contaminado interferiu negativamente no desenvolvimento da cultura.

Foi observado em solo autoclavado nos meses de junho e julho menor comprimento de raízes (CR), este fato é atribuído a redução da biota do solo pelo processo de autoclavagem e por consequência acarreta menor nível de ciclagem e menor absorção pela planta, pois os fungos do solo são responsáveis por alterar e degradar moléculas orgânicas, afetando seus efeitos sobre as espécies receptoras como o comprimento das raízes (CAMPO-MARTÍNEZ et al., 2014).

Ao se observar o índice de coloração verde das folhas (SPAD) é possível averiguar entre os diferentes substratos que a população de nematoides interfere na intensidade da cor verde das folhas da goiabeira. De acordo com Pereira et al. (2016), no desenvolvimento das cultivares de *Psidium guajava* L. inoculadas com nematoide das galhas, foi observada redução na coloração verde das folhas, bem como diminuição do vigor das plantas avaliadas por meio de aspectos visuais. O primeiro sintoma do parasitismo de nematoide é o amarelecimento foliar; por consequência, afeta a fisiologia das plantas pelos processos fotossintéticos, pois os processos fisiológicos, como a fotossíntese, dependem do adequado metabolismo das plantas para ocorrer (PINHEIRO et al., 2014; BISBIS et al., 2018). Conforme estudado por Zhang et al. (2016), a utilização de espécies de *Trichoderma* aumenta os teores de clorofila e, dessa maneira, favorece o crescimento vegetal.

As raízes infectadas com nematoides reduzem a absorção de água, sabe-se que o tecido vegetal é composto basicamente por água que é solicitada para a manutenção do metabolismo das plantas na condução de solutos, na abertura e fechamento estomático, na turgescência das células e na penetração das raízes no solo ou substrato (TAIZ; ZEIGER, 2013), sendo assim os nematoides interferem na massa fresca da parte aérea (MFPA), bem como na massa fresca das raízes (MFR) das mudas de goiabeira 'Paluma' avaliadas na pesquisa em solo contaminado. Já em solo autoclavado a redução da biota afeta diretamente o desenvolvimento das raízes.

Segundo Fernandes et al. (2014) a aplicação de *Pochonia chlamydosporia* não alterou significativamente a massa fresca das raízes nem a massa fresca da parte aérea em tomateiro infestado com *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*. Contudo *Trichoderma harzianum* foi utilizado no tratamento de sementes e notou-se que a inoculação deste fungo promove aumento na massa fresca das raízes do meloeiro (*Cucumis melo* L.) (GALLETTI et al., 2015), pois proporciona a solubilização de fósforo e impulsiona a síntese de ácido indol acético (AIA) (CHAGAS et al., 2016).

A massa seca da parte aérea (MSPA) obteve diferença significativa para *Trichoderma harzianum* no mês de início do experimento, corroborando com esta pesquisa, Santos et al. (2010) ao utilizar isolados de *Trichoderma harzianum* notaram resultados positivos no incremento da matéria fresca e matéria seca das plantas de maracujá inoculadas. *Pochonia chlamydosporia* apresentou-se junto a testemunha, com menor massa seca de parte aérea para o mesmo mês, os resultados

podem ter sido influenciados pela temperatura ambiente que interferiu no desempenho dos fungos benéficos.

Os resultados encontrados por Escudero et al. (2017) apontam *Pochonia chlamydosporia* como incapaz de afetar a infecção e o desenvolvimento de nematoides nas raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). O solo contaminado apresentou menor MSPA, constatando que a presença de nematoides pode acarretar redução na biomassa da planta, uma vez que a absorção de nutrientes tende a se comprometer.

Ao avaliar o comportamento dos fungos inoculados para a variável massa seca das raízes (MSR), *Trichoderma harzianum* encontra-se superior aos demais inoculados e testemunha, quanto aos solos estudados, notou-se que no mês de junho obteve menor MSR em solo autoclavado, possivelmente por falta da biota indutora de crescimento através dos processos de ciclagem de nutrientes e em setembro o solo contaminado apresentou menor MSR, deduzindo a redução pela infestação bem estabelecida dos nematoides. *Trichoderma* spp. foi inoculado em plantas de *Hypericum perforatum* (erva-de-são-joão), e ocorreu o melhor desenvolvimento das raízes, contudo na temperatura entre 21 °C e 23 °C (GIURGIU et al., 2018).

De acordo com Zavala-Gonzalez (2016), *Pochonia chlamydosporia* é indutora de crescimento radicular, pois promove aumento das raízes laterais e primárias, o que evidencia uma biomassa radicular visivelmente maior, mas para tanto são necessários fatores ambientais propícios ao seu desenvolvimento e ação. *Pochonia chlamydosporia* foi estudada por Arevalo et al. (2009) onde foi verificado seu parasitismo em ovos de *Meloidogyne mayaguensis*, mas de acordo aos autores, para os isolados de *Pochonia chlamydosporia* a melhor temperatura de crescimento e esporulação está entre 24°C a 28°C, de acordo a (Figura 1) atingiu-se temperaturas abaixo daquelas indicadas para bom desempenho do fungo.

De acordo com Robaina et al. (2015), a nematofauna pode apresentar sazonalidade conforme as chuvas e as flutuações relacionadas à temperatura do solo. Corroborando com esta pesquisa Benavides et al. (2016), estudando a eficiência de nematicidas biológicos observou que as cepas de *Trichoderma* não apresentou redução sobre a população final de nematoides do gênero *Meloidogyne* spp. durante o período de avaliação.

Conforme Mendonça et al. (2016), estudando a eficiência do controle biológico de nematoides com fungos antagonistas, as plantas tratadas com *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma harzianum* reduziram significativamente a população final de nematoides. Conforme Bontempo et al. (2017), a aplicação de 3,0 kg ha do isolado de *Pochonia chlamydosporia* reduziu a população de *Meloidogyne incognita* e melhorou a qualidade e o rendimento de cenouras. Com resultados divergentes, faz-se necessária a realização de pesquisas voltadas ao controle biológico na cultura da goiabeira e testes á campo devem ser aplicados.

5. CONCLUSÕES

Trichoderma harzianum promove o crescimento em mudas de goiabeira ‘Paluma’ com incrementos na massa fresca e seca da parte aérea e na massa seca das raízes.

Pochonia chlamydosporia mostrou-se menos eficientes quanto a promoção de crescimento inicial das mudas de goiabeira quando comparadas a *Trichoderma* spp.

A infestação dos nematoides de segundo instar (J2) no solo, não foi influenciada pela inoculação dos fungos nos meses em que se realizou a pesquisa.

6. AGRADECIMENTOS

À FAPESB pela concessão da bolsa de estudos, à Biofungi pela disponibilidade dos agentes de biocontrole e à Pós-Graduação em Agronomia da UESB pelo recurso humano e material empregados nesta pesquisa.

7. REFERÊNCIAS

- ADAK, A.; PRASANNA, R.; BABU, S.; BIDYARANI, N.; VERMA, S.; PAL, M.; SHIVAY, Y. S.; NAIN, L. Micronutrient Enrichment Mediated by Plant-Microbe Interactions and Rice Cultivation Practices. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 9, p. 1216-1232, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/01904167.2016.1148723>
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 2, p. 288-292, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.007>
- AREVALO, J.; HIDALGO-DÍAZ, L.; MARTINS, I.; SOUZA, J. F.; CASTRO, J. M. C.; CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S. Cultural and morphological characterization of *Pochonia chlamydosporia* and *Lecanicillium psalliotae* isolated from *Meloidogyne mayaguensis* eggs in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 158-163, 2009. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762009000300004>
- BENAVIDES, I. V.; MORA, J. D.; HERNANDÉS, T. G. Evaluación in vitro de diez cepas de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*. **Tecnología en marcha**, Catargo, v. 30, n. 1, p. 27-37, 2017.
- BIBIS, M. B.; GRUDA, N.; BLANKE, M. Potential impacts of climate change on vegetable production and product quality. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 170, p. 1602-1620, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.09.224>
- BONTEMPO, A. F.; LOPES, E. A.; FERNANDES, R. H.; FREITAS, L. G. de; DALLEMOLE- GIARETTA, R. Dose-response effect of *Pochonia chlamydosporia* against *Meloidogyne incognita* on carrot under field conditions. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 1, p. 258-262, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/1983-21252017v30n129rc>
- CAMPO-MARTÍNES, A. P.; ACOSTA-SANCHEZ, R. L.; MORALES-VELASCO, S.; PRADO, F. A. Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de popayán. **Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**. v. 12, n. 1, p. 79-87, 2014.
- CHAGAS, L. F. B.; CASTRO, H. G.; COLONIA, B. S. O.; CARVALHO FILHO, M. R.; MILLER, L. O.; CHAGAS JUNIOR, A. F. Efficiency of *Trichoderma* spp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo- SP, v. 38, n. 4, p. 1-11, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s40415-015-0247-6>

- DINARDO-MIRANDA, L. L.; PIVETTA, J. P.; FRACASSO, J. V. Influência da época de aplicação de nematicidas em soqueiras sobre as populações de nematoides e a produtividade da cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 179-190, 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.01415>
- ESCUDERO, N.; LOPEZ-MOYA, F.; GHAREMANI, Z.; ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; ALAGUERO-CORDOVILLA, A.; ROS-IBÁÑEZ, C.; LACASA, A.; SORRIBAS, F. J.; LOPEZ-LLORDA, L. V. Chitosan increases tomato root colonization by *Pochonia chlamydosporia* and their combination reduces root-knot nematode damage. **Frontiers in Plant Science**. v. 8, p. 1415-1425, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.01415>
- FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 194-200, 2014.
- FIPKE, G. M.; PAZINI, J. de B.; ETHUR, L. Z. Antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. ao *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes temperaturas. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 27, n. 1, p. 23-32, 2015.
- GALLETI, S.; FORNASIER, F.; CIANCHETTA, S.; LAZZERI, L. Soil incorporation of brassica materials and seed treatment with *Trichoderma harzianum*. Effects on melon growth and soil microbial activity. **Industrial crops and products**, v. 75, p. 73-78, 2015. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.030>
- GIURGIU, R. M.; DUMITRAS, A.; MORAR, G.; SCHEEWE, P.; SCHRÖDER, F. G. A Study on the Biological Control of *Fusarium oxysporum* Using *Trichoderma* spp., on Soil and Rockwool Substrates in Controlled Environment. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanic**, Cluj-Napoca, v. 46, n. 1, p. 260-269, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.15835/nbha46110939>
- IBGE_INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. 2018. Disponível em: <<https://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 30/01/2020.
- JENKINS, W. R. A. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, n. 9, 692 p. 1964.
- LOPES, P. S.; RIBEIRO, R. C. F.; XAVIER, A. A.; ROCHA, L. S.; MIZOBUTSI, E. H. Determination of the treatment period of banana seedlings with rhizobacteria in the control of *Meloidogyne javanica*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 4, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018423>
- MACHADO, D. F. M.; TAVARES, A. P.; LOPES, S. J.; SILVA, C. F. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 167-176, 2015. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/0100-67622015000100016>
- MARTINS, L. S. S.; MUSSER, R. dos S.; SOUZA, A. das G.; RESENDE, L. V.; MALUF, W. R. Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em espécies de Myrtaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 477-484, 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452013000200017>
- MENDONÇA, L. L. R.; ALVES, F. R.; CHAGAS, E. N.; CAMARA, G. R.; SILVA, G. A.; JESUS JÚNIOR, W. C.; MORAES, W. B. Management of *Meloidogyne javanica* with biological pesticides and oils in a lettuce field. **Nematoda**, v. 3, 2016.
- PAZ, R. A. O.; PIEDRAHITA, Ó. A. G.; CAYEDO, J. L. Manejo integrado del nematodo del nudo radical *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood y *Meloidogyne mayaguensis* Rammh & Hirschmann] en almacigos de guayabo (*Psidium guajava* Linneo), variedad Palmira ICA-1. **Boletín Científico Centro de Museos de Historia Natural**, v. 19, n. 2, p. 154-172, 2015.
- PINHEIRO, A. C. T.; SOUZA, L. T. O.; COIMBRA, J. L. Controle de *Meloidogyne enterolobii* em mudas de goiabeira com fungos micorrízicos isolados do Cerrado baiano. **Revista Agro@mbiente On line**, Boa Vista, v. 8, n. 3, p. 398-403, 2014.
- PEREIRA, K. C.; SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M. dos; BATISTA, E. S. de P.; MALDONADO JÚNIOR, W. Development of guava cultivars parasitized by *Meloidogyne enterolobi*. **Nematropica**, Bradenton, v. 46, n. 1, p. 54-59, 2016.
- ROBAINA, R. R.; SOUZA, R. M.; GOMES, V. M.; CARDOSO, D. O.; ALMEIDA, A. M. Nematode trophic structure in phytotelmata of *Canistropsis billbergioides* and *Nidularium procerum* (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest - variability in relation to climate variables and plant architecture. **Nematoda**, v. 2, 2015.
- SABANDO-ÁVILA, F.; MOLINA-ATIENCIA, L. M.; GARCÉS-FIALLOS, F. R. *Trichoderma harzianum* en pré-transplante aumenta el potencial agronómico del cultivo de piña. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n.4, p.410-414, 2017.
- SANTOS, H. A.; MELLO, S. C. M.; PEIXOTO, J. R. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e ácido indol-3-butírico (aib) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 966-972, 2010.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2013. 954 p.
- TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473 p.
- ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; RODRIGUÉZ-CAZOLA, E.; ESCUDERO, N.; ARANDA-MARTINEZ, A.; MARTINEZ-LABORDA, A.; RAMÍREZ-LEPE, M.; VERA, A.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Arabidopsis thaliana root colonization by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* is modulated by jasmonate signaling and leads to accelerated flowering and improved yield. **New Phytologist**, Cambridge, v. 213, n. 1, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/nph.14106>
- ZHANG, F.; GE, H.; ZHANG, F.; GUO, N.; WANG, Y.; CHEN, L.; JI, X.; LI, C. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 100, p. 64-74, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.017>