

SAMIELE CAMARGO DE OLIVEIRA DOMINGUES

**DESENVOLVIMENTO DE ALFACE CRESPA EM
FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE AGENTES
BIOLÓGICOS NA PRESENÇA DE NEMATOIDES
DE GALHAS**

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2020

SAMIELE CAMARGO DE OLIVEIRA DOMINGUES

Diss. MESTRADO

PPGBioAgro 2020



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO

**FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E
AGRÁRIAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS
AMAZÔNICOS**



SAMIELE CAMARGO DE OLIVEIRA DOMINGUES

**DESENVOLVIMENTO DE ALFACE CRESPA EM
FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE AGENTES
BIOLÓGICOS NA PRESENÇA DE NEMATOIDES
DE GALHAS**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho
Co-orientador: Prof. Dr. Hudson de Oliveira Rabelo

ALTA FLORESTA-MT

2020

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

- D671d DOMINGUES, Samiele Camargo de Oliveira.
Desenvolvimento de Alface Crespa em função da aplicação de agentes biológicos na presença de nematóides de galhas: microrganismos como promotores de crescimento em cultivares de Alface / Samiele Camargo de Oliveira Domingues. – Alta Floresta, 2020.
72 f. ; 30 cm.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Dissertação/Mestrado) – Curso de Pósgraduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Câmpus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2020.
Orientador: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho.
Coorientador: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo.
1. Controle Biológico. 2. Hortaliças. 3. Promotores de Crescimento. 4. *Bacillus subtilis*. 5. *Trichoderma* spp. I. Carvalho, M. A. C. de, Dr. II. Rabelo, H. de O., Dr. III. Título. IV. Título: microrganismos como promotores de crescimento em cultivares de Alface.

CDU 635.5:631.8

DESENVOLVIMENTO DE ALFACE CRESPA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS NA PRESENÇA DE NEMATOIDES DE GALHAS

Samiele Camargo de Oliveira Domingues

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Aprovada em: 11/02/2020

Prof. Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho
Orientador – UNEMAT/ PPGBioAgro

Prof. Dr. Oscar Mitsuo Yamashita
UNEMAT/ PPGBioAgro

Prof. Dra. Valeria de Oliveira Faleiro
Embrapa Agrossilvipastoril

DEDICATÓRIA

A Deus, meus filhos Murilo Domingues e Gustavo Domingues, ao meu marido Lucas Domingues, minha mãe Sonia Camargo, aos meus sogros José Altino Domingues e Simone Domingues, companheiros de todas as horas...

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Lucas Cirano Coimbra Domingues, pelo apoio e compreensão pelos dias e até as madrugadas que estive em sala de aula e laboratórios para me dedicar a Pós-Graduação. Agradeço imensamente por me estimular a tornar mais esse sonho realidade.

Aos meus filhos Murilo José C. Domingues e Gustavo C. Domingues, pelo carinho, ajuda, paciência, e em especial a compreensão pelos dias e noites que me ausentei do nosso lar para me dedicar a faculdade.

A minha mãe Sonia Bernadete de Camargo, meu irmão Matheus Henrique Camargo de Oliveira, pai Gentil de Oliveira e Tio Genilto de Oliveira pela confiança, incentivo, amor, paciência.

Aos meus sogros José Altino Domingues e Simone Gonçalves Domingues, e cunhada Sheila Domingues, pelo carinho, apoio, e ajuda durante essa caminhada, sem os quais eu não teria conseguido.

À Universidade do Estado de Mato Grosso que me acolhe desde 2013 quando iniciei a graduação em Agronomia.

Ao Programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, pela oportunidade concedida e apoio.

Ao Professor orientador Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho, obrigada por confiar nas minhas capacidades e ter uma incansável paciência para perdoar meus erros, pelo respeito, incentivo, colaboração e auxílio constante.

Ao Professor co-orientador Dr. Hudson de Oliveira Rabelo pela disponibilidade, conhecimento compartilhado, pelos conselhos valiosos, ajuda inestimável, mas acima de tudo pela amizade e fé de que tudo daria certo.

À Professora M.sc. Grace Queiroz David por ter disponibilizado os isolados de fungo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos (PPGBioAgro), pelos ensinamentos.

A minha amiga M.Sc. Lígia Eburneo pela orientação e ensinamentos proporcionados ao longo dessa caminhada, agradeço por todas as palavras de apoio, elogios, amizade, ensinamentos e principalmente pela paciência, que me guiaram desde minha graduação.

Aos demais professores do Curso de Agronomia e profissionais que estiveram presentes e de alguma forma contribuíram com minha formação acadêmica e científica, além da amizade cultivada ao longo da graduação e pós-graduação, em especial aos Professores M.Sc.s. Adriano Maltezo da Rocha, Dr. Oscar Mitsuo Yamashita e Dra. Rayssa Pereira Vicentin, Dra. Sheila Caioni e Dr. Thiago Lisboa Parente.

Aos amigos valiosos Laiza Almeida Dutra, Fabiane Nascimento, Luiz Fernando Scatola, Edmar Santos Moreira, João Paulo Medeiros Schmitt, Ellen Clarissa Pereira da Cunha, Lucas Eduardo Batista da Cruz, Alana Raquel Pires que me ajudaram na execução de diferentes etapas desse projeto, pela incansável dedicação, competência e amizade.

Aos colegas Stefany, Luiz Fernando Gibbert, Andréia do Anjo, Felipe de Souza Freitas, Amauri de Castro Barradas, Jean Carlos de Oliveira, Marcia, Felipe e Lara Caroline Alves de Oliveira.

Aos pesquisadores que compõem a banca examinadora pela disponibilidade e contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A Deus que colocou essas instituições e pessoas no meu caminho oportunizando que eu realize esse trabalho e ainda me deu forças para fazê-lo.

A todos as pessoas que me ajudaram com palavras de consolo, substituições e conselhos, estiveram comigo pelos momentos de aprendizado, pelas alegrias e frustrações compartilhadas.

Aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho e me suportaram nos momentos difíceis.

Em especial dedico essa dissertação a minha avó Maria Lucia de Oliveira, que se fez tão presente na minha infância, e hoje se encontra como uma estrela no céu.

Muito Obrigada!!!!

“A responsabilidade social e a preservação ambiental
Significa um compromisso com a vida.”

João Bosco da Silva

Sumário

RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
3. CAPÍTULOS	9
3.1. DESENVOLVIMENTO DE ALFACE CRESPA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS NA PRESENÇA DE NEMATÓIDES DE GALHAS.....	9
Resumo.....	10
Abstract.....	11
Introdução	12
Material e Métodos.....	15
Resultados e discussão	19
Conclusões.....	30
3.2. MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM CULTIVARES DE ALFACE ¹	37
Resumo.....	38
Abstract.....	39
Introdução	40
Resultados e Discussão.....	46
Referências Bibliográficas.....	53
2. CONCLUSÕES GERAIS	57

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Resultado da análise química de macronutrientes e granulometria do solo e da camada de 0 - 20 cm do solo utilizado no experimento de controle biológico de <i>Meloidogyne</i> spp. para a cultivar de alface Mediterrânea. Alta Floresta – MT, 2019.	15
Tabela 2: Resumo da análise de variância (Valor de F) e coeficiente de variação (CV) para número de folhas (NF), Altura total da parte aérea (APA), e diâmetro do caule (DC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle biológico para <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. incognita</i> , e <i>M. enterolobii</i> . Alta Floresta – MT, 2019.	19
Tabela 3: Desdobramento significativo entre espécie de <i>Meloidogyne</i> e agentes de controle biológico para número de folhas (NF), altura da parte aérea (APA) e diâmetro do caule (DC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes biológicos de controle para <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. incognita</i> , e <i>M. enterolobii</i> . Alta Floresta – MT, 2019.	20
Tabela 4: Resumo da análise de variância (Valor de F) e coeficiente de variação (CV) para área foliar (AF), Massa fresca total da parte aérea (MFT) e Massa fresca comercial da parte aérea (MFC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle biológico para <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. incognita</i> , e <i>M. enterolobii</i> . Alta Floresta – MT, 2019.	24
Tabela 5: Desdobramento significativo entre espécies de <i>Meloidogyne</i> e Agentes biológicos de Controle para área foliar (AF), Massa fresca total da parte aérea (MFT) e Massa fresca comercial da parte aérea (MFC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle biológico para o controle de <i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. incognita</i> , e <i>M. enterolobii</i> . Alta Floresta – MT, 2019.	24

CAPÍTULO 1

Tabela 6: Resultado da análise de solo utilizado no experimento de promotor de crescimento em cultivares de alface. Análise realizada no Laboratório de Análises de solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso - LASAF. Alta Floresta – MT, 2019.	42
Tabela 7: Valores de F e coeficiente de variação CV (%) de plantas de alface em função de cultivar e tratamentos com microrganismos promotores de crescimento para número de folhas (NF), área foliar (AF), massa fresca da parte aérea comercial (MFCPA), massa fresca total da parte aérea (MFPAT), massa seca da parte aérea total (MSPAT). Alta Floresta - MT (2019).	46
Tabela 8: Desdobramento da interação significativa entre cultivares de alface e agentes de controle para comprimento do caule (CC), diâmetro do caule (DC),	

altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz (CR), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR). Alta Floresta – MT, (2019)..... 48

LISTA DE SIGLAS

CAPES Cordenação de Pesquisa Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

PPGBioAGRO Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos

PRPPG Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação

BDA Batata-dextrose-ágar

B.O.D. Biological Oxygen Demand

RESUMO

Domingues, Samiele Camargo de Oliveira. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2020. **Desenvolvimento de alface crespa em função da aplicação de agentes biológicos na presença de nematoides de galhas.** Orientador: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho. Co-orientador: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo

A alface é uma importante hortaliça devido seu valor nutricional, mas a principal forma de cultivo (solo) e a necessidade de grande demanda, faz com que a cultura seja dependente de alta tecnologia de produção. Como alternativa de manejo sustentável para atender a necessidade de consumo, o presente trabalho através de dois experimentos objetivou avaliar a capacidade de microrganismos como agentes de controle biológico em duas cultivares de alface crespas (Mediterrânea e Solares) sobre o potencial nematocida de *Meloidogyne* spp., e também avaliar se estes possuem capacidade como promotores de crescimento. O primeiro experimento Desenvolvimento de alface crespa em função da aplicação de agentes biológicos na presença de nematoides de galhas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 7 x 3, em duas cultivares (Mediterrânea e Solaris), que se aplicou Agentes biológicos (Testemunha, Três isolados de *T. atroviride*, *T. viride*, *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*) sobre a infestação de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*. No segundo experimento visando avaliar a capacidade de promotores de crescimento, empregou-se o delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2 x 6, com duas cultivares (Mediterrânea e Solaris), sobre a ação de promotores de crescimento (Testemunha, Três isolados de *Trichoderma atroviride*, *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*). Ambos experimentos foram conduzidos em ambiente protegido, constituídos por microrganismos aplicados via solução nas raízes da alface. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as medias dos tratamentos comparadas pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade com auxílio do software Sisvar. A utilização dos Microrganismos como agentes biológicas e promotores de crescimento se mostrou promissora, em especial a utilização de *Bacillus subtilis* e *T. atroviride*.

Palavras-chave: Controle biológico; Hortaliças; Promotores de crescimento.

ABSTRACT

Domingues, Samiele Camargo de. **Development of curly lettuce due to the application of biological agents in the presence of gall nematodes.** Advisor: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho. Co-advisor: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo).

Lettuce is an important vegetable due to its nutritional value, but the main form of cultivation (soil) and the need for great demand, makes the crop dependent on high production technology. As an alternative for sustainable management to meet the need for consumption, the present work, through two experiments, aimed to evaluate the capacity of microorganisms as biological control agents in two lettuce cultivars (Mediterranean and Solares) on the nematicidal potential of *Meloidogyne* spp., and also assess whether they have the capacity as growth promoters. The first experiment Development of curly lettuce as a function of the application of biological agents in the presence of gall nematodes, a completely randomized design in a 2 x 7 x 3 factorial scheme was used in two cultivars (Mediterrânea and Solaris), which was applied Biological agents (Control, Three isolates of *T. atroviride*, *T. viride*, *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense*) on the *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. enterolobii* infestation. In the second experiment aiming to evaluate the capacity of growth promoters, a completely randomized design was used in a 2 x 6 factorial scheme, with two cultivars (Mediterrânea and Solaris), on the action of growth promoters (Witness, Three isolates of *Trichoderma atroviride* , *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense*). Both experiments were conducted in a protected environment, consisting of microorganisms applied via solution to the lettuce roots. The data were submitted to analysis of variance, and the treatment averages were compared using the Scott Knott test at 5% probability with the aid of the Sisvar software. The use of microorganisms as biological agents and growth promoters has shown promise, especially the use of *Bacillus subtilis* and *T. atroviride*.

Key-words: Biological control; Vegetables; Growth promoters.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As hortaliças constituem um grande grupo de plantas alimentícias que se caracterizam pelo alto valor nutritivo, principalmente por serem importantes fontes de vitaminas, sais minerais, normalmente com pequeno porte e em geral, rápido crescimento. No Brasil, considera-se que existam mais de 70 espécies de hortaliças cultivadas comercialmente e disponíveis nos mercados (HENZ; ALCÂNTARA, 2009).

A alface (*Lactuca sativa* L.) ocupa lugar de destaque no mercado brasileiro das hortaliças folhosas, sendo a mais consumida em todos os estados da federação (COSTA; SALA, 2005). É uma planta anual, ciclo curto, originária de clima temperado e que pertence à família Asteracea (HENZ; SUINAGA, 2009). Possui grande variabilidade quanto à forma, cor e textura das folhas, caracterizando os diferentes tipos comerciais (CARVALHO FILHO et al., 2009).

É cultivada em todas as regiões brasileiras, porém há restrições ao seu cultivo em virtude de sua sensibilidade às condições adversas de temperatura, umidade do ar e disponibilidade de água (BRZEZINSKI et al., 2017). Existem, porém, cultivares melhoradas, desenvolvidas para as mais diversas condições de clima (MALDONADE et al., 2014).

Devido à sua rápida perecibilidade, a alface normalmente é cultivada nas proximidades dos centros consumidores, e produzida nas mais variadas regiões brasileiras e ao longo de todo ano (FIORINI, 2005). E o cultivo é realizado de forma intensiva e escalonado (ECHER et al., 2016), o que torna esta hortaliça extremamente propensa aos mais variados problemas fitossanitários. Principalmente quando se trata do cultivo a campo, que é sistema tradicional, o mais importante em termos de área e de produção (HENZ; SUINAGA, 2009).

Um dos crescentes problemas de cultivo de alface e outras hortaliças cultivadas diretamente no solo é a incidência de pragas e patógenos, que atacam os sistemas radiculares das plantas, como os nematoides (OLIVEIRA et al., 2009). São microrganismos amplamente distribuídos no solo e suas comunidades tróficas são compostas de diversas espécies (TEIXEIRA et al., 2011).

No Brasil já foram catalogadas, em associação à cultura da alface, diversas espécies de nematoides, que causam perdas principalmente na redução da produção (OLIVEIRA et al., 2017). O nematoide das galhas, do gênero *Meloidogyne*, é considerado o mais importante dentre os fitonematoides que atacam a alface, devido a elevadas perdas provocadas em áreas de exploração agrícola em todo o mundo (SILVA et al., 2016).

Para manter a densidade populacional dos fitonematoides abaixo do nível de dano econômico em áreas de intenso ataque, a utilização de cultivares resistentes tem se destacado como o método com melhores resultados, já que métodos como pousio, alqueive, uso de plantas armadilhas e antagônicas podem ser economicamente inviáveis (CARNEIRO et al., 2000).

Assim, o uso de cultivares tolerante seria o método ideal de controle de fitonematoides em alface. No entanto, Pereira et al. (2013) relatam que muitas das cultivares de alface presentes no mercado, normalmente apresentam suscetibilidade a nematoides, e quando há essa tolerância, costuma ser específico por raça.

Outra opção em áreas de infestação de nematoides é o manejo com a aplicação de nematicidas, apesar dos elevados custos econômicos e danos ambientais consideráveis (MARINO; DA SILVA, 2013). Para a cultura da alface, não há recomendação de uso de nematicidas pois não há registros para estes agroquímicos. Isto se deve à elevada toxicidade e o longo período residual dos nematicidas atualmente no mercado, dificultando o emprego desses produtos na cultura, que apresenta um ciclo relativamente curto (OLIVEIRA et al., 2017).

Uma recente opção para este problema é o uso de determinados agentes de controle biológico, que constituem uma alternativa viável para a redução do potencial de inóculo de patógenos habitantes do solo, sem trazer danos ao meio ambiente (MELLO et al., 2007). O controle biológico envolve a utilização de organismos vivos residentes (MACHADO et al., 2012).

Dentre as diversas modalidades de controle biológico para nematoides, existe o realizado por fungos nematófagos. Algumas literaturas datam da década de 80 em que Thorn e Barron (1984) relatam o uso de fungos do gênero *Pleurotus* spp., que possuem características próprias capazes de inativar ovos de nematoides e posteriormente digeri-los.

Outros fungos nematófagos atualmente bastante utilizados para controle biológico são espécies de *Trichoderma*, esse gênero vem se destacando como nematófagos por serem produtores de metabólitos tóxicos que interferem no comportamento do fitonematoide (RODRIGUES, 2014). São capazes de colonizar robustamente e por longos períodos o sistema radicular das plantas, causando mudanças substanciais no proteoma e no metabolismo, que passam a ficar protegidas contra diversos fitopatógenos e, frequentemente, são beneficiadas no seu desenvolvimento e produtividade (HARMAN et al., 2004).

Outro grupo de microrganismos utilizados para o controle biológico são as bactérias endofíticas. De acordo com Machado et al (2012), uma das vantagens da utilização dessas bactérias é a competência natural para colonizar a rizosfera, e invadir os tecidos internos das plantas. Estes microrganismos de rápido estabelecimento possuem ações com mecanismos que estimulam o metabolismo secundário das plantas, contribuindo para o controle de patógenos. Dentre os gêneros com esta capacidade, os mais conhecidos são *Bacillus* (GARCIA, et al. 2015) e *Azospirillum* (MACHADO et al., 2012).

Bacillus subtilis é uma bactéria habitante natural do solo, tem a capacidade de colonizar todos os órgãos vegetativos da planta, sendo encontrada como epifítica, endofítica e rizobactéria, confirmando o seu amplo espectro para o uso agrônômico (LANNA FILHO, et al., 2010). A resposta positiva de *B. subtilis*, se deve pela ação desse gênero em proteger as plantas contra fungos e nematoides fitopatogênicos, além de possibilitar a solubilização de nutrientes e disponibiliza-los de forma mais concreta, promovendo a síntese de compostos orgânicos que atuam na captação de moléculas de ferro pelos organismos (BENEDUZI et al., 2012; PAZ et al., 2012).

Azospirillum brasilense são bactérias gram negativas, de vida livre, encontradas nos solos tropicais e subtropicais em abundância e que, apesar de endofíticas em gramíneas, podem se associar a culturas leguminosas (QUADROS, 2009).

Além do controle de fitopatógenos, os microrganismos como *Trichoderma* spp. (RESENDE, et al., 2004), *B. subtilis* (GARCIAS, et al., 2015) e *A. brasiliense* (CARDOSO et al., 2010) também podem agir como promotores de crescimento. Este efeito dependerá das propriedades e mecanismos da ação entre planta e

microrganismo. Pesquisas com diferentes culturas comprovam essa capacidade contudo, ainda são pouco conhecidos os mecanismos de ação na promoção do crescimento em ausência de fitopatógenos (MACHADO, et al., 2012). A promoção de crescimento de plantas é uma característica desejável, que pode resultar em encurtamento do ciclo de cultivo e aumento na produção (FREITAS et al., 2003).

Com base no exposto, objetivou-se a realizar dois experimentos. No primeiro experimento, avaliou-se a capacidade de cultivares de alface em tolerar o ataque de nematoides a partir do seu tratamento, com agentes de controle biológico, e, no segundo experimento, buscou-se verificar a capacidade destes microrganismos utilizados como agentes de controle em promover o crescimento vegetal das cultivares de alface.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. tomato by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. **Applied and environmental microbiology**, La Paz, v. 68, n. 6, p. 2637-2643, 2002.
- BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 1044-1051, 2012.
- BRZEZINSKI, C. R. I.; ABATI, J.; GELLER, A.; WERNER, F.; ZUCARELI, C. Produção de cultivares de alface americana sob dois sistemas de cultivo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 64, n. 1, p. 82-89, 2017.
- CARDOSO, I. C. M.; KLAUBERG FILHO, O.; MARIOTTO, J. R.; MIQUELLUTI, D. J., VICENTE, D.; NEVES, A. N. Ocorrência de bactérias endofíticas do gênero *Azospirillum* em arroz irrigado no estado de Santa Catarina. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 9, n. 2, 178-186, (2010).
- CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDING, O.; ALMEIDA, M. R. A.; CAMPOS, A. D. Resistance of vegetable crops to *Meloidogyne* spp.: suggestion for a crop rotation system. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n.1, p.49-54, 2000.
- CARVALHO FILHO, J. L. S.; GOMES, L. A. A.; SILVA, R. R.; FERREIRA, S.; CARVALHO, R. R. C.; MALUF, W. R. Parâmetros populacionais e correlação entre características da resistência a nematoides de galhas em alface. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 1, p. 46-51, 2011.
- COSTA, C.P.; SALA, F.C. A evolução da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, 2005.

ECHER, R.; LOVATTO, P.B.; TRECHA, C.O.; SCHIEDECK, G. Alface à mesa: implicações socioeconômicas e ambientais da semente ao prato. **Revista Thema**, Pelotas, V. 13, n 3, p. 17- 29, 2016.

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; FIORINI, I.V.A.; DUARTE, R.P.F.; LICURSI, V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p. 299-302, 2005.

FREITAS, G. A.; SILVA, R. R.; BARROS, H. B.; VAZ-DE-MELO, A.; ABRAHÃO, W. A. P. Produção de mudas de alface em função de diferentes combinações de substrato. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 159-166, 2013.

GARCIA, T. V.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 82, p. 1-9, 2015.

HENZ, G. P.; ALCÂNTAR, F. A. **Hortas: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa hortaliças, 237 p., 2009 (Embrapa Hortaliças. Informação Tecnológica).

HENZ, G.P.; SUINAGA, F. **Tipos de Alface Cultivados no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 7p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnico, 75).

LANNA FILHO R; FERRO HM, PINHO RSC. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v.4, n.2, p. 12-20, 2010.

MACHADO, V.; BERLITZ D.L.; MATSUMURA, A.T.S.; SANTIN, R.M.S.; GUIMARÃES, A.; DA SILVA, M. E.; FIUZA, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematoides. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 16, n.2, p.165-182, 2012.

MALDONADE, I.R.; MATTOS, L.M.; MORETTI, C.L. **Manual de boas práticas agrícolas na produção de alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2014. 44 p. (Embrapa Hortaliças. Documento141).

MARINO, R.H.; DA SILVA D.G.C. Controle do nematoide das galhas por *Pleurotus ostreatus* em alface. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 9, n. 10, 6p., 2013.

MELLO, S. C. M., ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M.; PÁDUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidad**, La Habana, v. 11, n. 1, p.3-9, 2007.

OLIVEIRA, C. M. G. de; KUBO, R. K.; ROSA, J. M. O. Nematoides. In: COLARICCIO, A.; CHAVES, A. L.R. (Org). **Boletim Técnico Aspectos Fitossanitários da Cultura da Alface**. São Paulo: Editora, Instituto Biológico, 2017. 67-76.

OLIVEIRA, C.D; BRAZ L, T.; SANTOS, J.M.; BANZATTO, D.A.; OLIVEIRA, P.R. Resistência de pimentas a nematoides de galha e compatibilidade enxerto/porta-enxerto entre híbridos de pimentão e pimentas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 520-526, 2009.

PAZ, I.C.; SANTIN, R.C.; GUIMARÃES, A.M.; ROSA, O.P.; DIAS, A.C.; QUECINE, M.C.; AZEVEDO, J.L.; MATSUMURA, A.T. Eucalyptus growth promotion by endophytic *Bacillus* spp. **Genetic and Molecular Research**, v. 11, n. 4, p. 3711-3720, 2012.

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F. de. **Diagnose e controle alternativo de doenças em alface, alho, cebola e Brassicas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 16 p. (Circular Técnica. Embrapa Hortaliças, 120).

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. Em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 74 p. 2009.

Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; VON PINHO, R. G.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n.4, p. 793-798, (2004).

RODRIGUES, L.L. **Manejo de *Meloidogyne javanica* em cultivo de alface**. 61 p. 2014. Dissertação (Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegres, 2014.

SILVA, M. D. C. L. D., SANTOS, C. D. G., SILVA, G. S. D. Species of *Meloidogyne* associated with vegetables in microregions of the state of Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, n. 47, v. 4, p. 710-719, 2016.

TEIXEIRA, R.A.; ROCHA, M.R.; CARNEIRO, M.A.C. Diversidade de nematóides em relação a diferentes usos do solo. In: CONPEEX, 8, 2011, Jataí. **Anais...** Jataí: Reunião Anual da SBPC; 2011. p.6.

Thorn R.G, Barron G.L. *Carnivorous mushrooms*. **Science**, Washington, v. 224, p. 67-78, 1984.

3 CAPÍTULOS

3.1. DESENVOLVIMENTO DE ALFACE CRESPA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO NA PRESENÇA DE NEMATÓIDES DE GALHAS.

¹ Artigo submetido no periódico "Ciência Rural".

Resumo – (Domingues, Samiele Camargo de Oliveira. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2020. **Desenvolvimento de alface crespa em função da aplicação de agentes de controle biológico na presença de nematoides de galhas.** Orientador: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho. Co-orientador: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo).

A alface é uma espécie de hortaliça folhosa cultivada e consumida em todo mundo. Entretanto, seu cultivo tem sido prejudicado por problemas fitossanitários que demandam soluções. Um desses problemas é o ataque de fitonematoides, especialmente os do gênero *Meloidogyne* sp., que ocasionam importantes perdas na produção. Na tentativa de minimizar o prejuízo, atualmente busca-se práticas de cultivo que sejam eficientes, de baixo custo e com reduzido impacto ambiental, tais como o emprego de agentes de controle biológico. Neste contexto, objetivou-se avaliar o potencial nematicida de agentes biológicos em infestação de espécies de *Meloidogyne* para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris. O experimento foi conduzido em ambiente protegido em delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2 x 3 x 7, sendo os tratamentos constituídos por duas cultivares (Mediterrânea e Solaris), três espécies de fitonematoides (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*), em combinação com sete agentes de controle biológico (Tratamento sem agente de controle, Três isolados locais de *T. atroviride*, *T. viride*, *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*). A inoculação dos fitonematoides foi realizada 24 horas antes do transplântio das mudas de alface, em que cada vaso foi inoculado com 1500 ovos e juvenis em estágio J2. Os tratamentos constituídos por microrganismos foram aplicados por soluções, com $5,0 \times 10^6$ conídios/bactérias por mL⁻¹, em que as raízes ficaram imersas por uma hora, em seguidas foram transplantadas nos vasos. A utilização de agentes de controle biológico se mostrou promissora para a cultivares de alface Solaris e Mediterrânea. Os microrganismos que se destacaram foram *B. subtilis* e *T. atroviride*.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*; *Bacillus subtilis*; *Trichoderma* spp..

Abstract - (Domingues, Samiele Camargo de Oliveira. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, February of 2020. **Development of curly lettuce due to the application of biological agents in the presence of gall nematodes.**

Advisor: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho. Co-advisor: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo).

Lettuce is a kind of leafy vegetable grown and consumed worldwide. However, its cultivation has been hampered by phytosanitary problems that demand solutions. One of these problems is the attack of phytonematodes, especially those of the genus *Meloidogyne* sp., Which cause significant losses in production. In an attempt to minimize the damage, cultivation practices that are efficient, low cost and with reduced environmental impact are currently being sought, such as the use of biological control agents. In this context, the objective was to evaluate the nematicidal potential of biological agents in infestation of *Meloidogyne* species for Mediterranean and Solaris lettuce cultivars. The experiment was carried out in a protected environment in a completely randomized design in a 2 x 3 x 7 factorial scheme, with the treatments consisting of two cultivars (Mediterrânea and Solaris), three species of phytonematodes (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. enterolobii*), in combination with seven biological control agents (Treatment without control agent, Three local isolates of *T. atroviride*, *T. viride*, *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense*). Phytomatoma inoculation was performed 24 hours before transplanting the lettuce seedlings, in which each pot was inoculated with 1500 eggs and juveniles in stage J2. The treatments made up of microorganisms were applied by solutions, with 5.0×10^6 conidia / bacteria per mL⁻¹, in which the roots were immersed for one hour, then they were transplanted into the pots. The use of biological control agents has shown promise for the cultivars of Solaris and Mediterranean lettuce. The microorganisms that stood out were *B. subtilis* and *T. atroviride*.

Key-words: *Azospirillum brasilense*; *Bacillus subtilis*; *Trichoderma* spp..

Introdução

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

Dos diversos problemas fitossanitários que podem afetar negativamente a cultura da alface, vem se destacando o severo ataque de fitonematoides, que atuam como importantes parasitas de tecidos vegetais, principalmente os que atacam as raízes (FERRAZ e BROWN, 2016; OLIVEIRA et al., 2017).

Os fitonematoides podem manter-se vivos e ativos em uma grande gama de hospedeiros (SCURRAH et al., 2005), dificultando o seu controle. Na cultura da alface tem sido um problema a ocorrência de nematóides das galhas, os *Meloidogyne* spp., esse gênero compreende parasitos obrigatórios de raízes e de caules subterrâneos, porém podem sobreviver em restos de culturas, principalmente em raízes ou tubérculos infectados ou mesmo na forma de ovos e juvenis disseminados no solo de cultivo (FERRAZ 1992; PINHEIRO et al., 2015). Uma vez estabelecidos na área, não há controle, mais podem ter suas populações reduzidas e mantidas em níveis baixos, mas a erradicação total é praticamente impossível (FIORINI, 2005).

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

O uso de cultivares tolerantes seria, portanto, o método ideal de controle de fitonematoides em alface, no entanto, poucas são as cultivares. Com a perspectiva de produtos isento de agroquímicos, e um correto manejo para

produção de alface, a tendência é a utilização dos microrganismos para o controle desses fitonematoides, contribuindo assim para a diminuição do uso de agroquímicos (CARNEIRO et al., 1996, WIETHAN, 2015). Dentro dos inimigos naturais que os nematoides possuem, os mais empregados na agricultura para o controle biológico são fungos e bactérias (STIRLING 1991; CARNEIRO, 1996)

De acordo com Cayrol e Ritter (1984) fungos predadores de nematoides, caracterizam por apresentar estruturas de captura especializadas, com capacidade de secretar substâncias colantes que prendem os nematoides. Nessa modalidade de parasitismo estão os *Trichoderma* spp., esse gênero é considerado importantes, e eficientes agentes biológicos que além de proteger as plantas contra doenças, também possuem mecanismos que promovem tanto a germinação de sementes como o desenvolvimento de algumas hortaliças (WIETHAN, 2015). Apesar da contribuição desses fungos para a agricultura, trabalhos envolvendo a associação destes fungos em hortaliças são bastante escassos (CHAVES, 2015).

Outro importante grupo de microrganismos que atuam como agentes biológicos são as bactérias, com diferentes modos de ação, e podem ser encontradas no solo, nos tecidos das plantas hospedeiras. As principais bactérias estudadas para controle biológico desses fitopatógenos são aquelas que habitam a rizosfera e têm a capacidade de invadir os tecidos internos das plantas, ou seja, as endofíticas facultativas, especialmente as do gênero *Bacillus* e *Azospirillum* (MACHADO V. et al., 2012).

Essas bactérias podem agir de forma direta, afetando a eclosão ou a mobilidade das formas juvenis, através de toxinas absorvidos pelos ovos, ou de forma indireta, pela alteração dos exsudatos radiculares, dificultando a localização das raízes pelos nematoides, ou pela indução de resistência sistêmica, por meio do contato direto dessas bactérias com os tecidos radiculares (MACHADO et al., 2016).

O gênero *Bacillus* é uma bactéria naturalmente encontrada no solo, capaz de produzir antibiótico, enzimas e fito-hormônios, que são benéficos para as plantas. Assim, promovendo o crescimento vegetal, e possuindo também capacidade de controlar os fitopatógenos (KLOEPPER et al., 1999). Quanto á *Azospirillum* podem promover o aumento das atividades fotossintéticas e

assimilação do nitrogênio nas plantas hospedeiras, pode causar antagonismo em fitopatógenos, a associação com diversas culturas, a produção de fitohormônios e a tolerância a variações de temperatura (ARAÚJO, 2008).

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

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em ambiente protegido do Laboratório de Fitotecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus Universitário de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial 2x3x7, com 8 repetições, duas por vasos, em que os tratamentos constituídos de duas cultivares de alface (Mediterrânea e Solaris), três espécies de nematoides (*M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*) combinados com sete Tratamentos (Agentes de controle biológico). As formas de controle foram: testemunha sem agente biológico (CO), *Trichoderma atroviride* isolado de quiabo (*Abelmoschus esculentus*) (TQ); *T. atroviride* isolado de couve (*Brassica oleracea*) (TC), *T. atroviride* isolado de cogumelo comestível (*Pleurotus pulmonarius*) (TP); Trichoplus® (*T. viride*) (TT); Biobac® (*Bacillus subtilis*) (BS), e Nitro Geo AZ® (*Azospirillum brasilense*) (AZ).

As unidades experimentais foram constituídas por vasos com capacidade de 3 dm³, preenchidos com substrato na proporção solo e areia (lavada) 3:1. Ambos os materiais foram esterilizados em autoclave por 90 minutos, a 121 °C (pressão de 1,0 atm). O solo utilizado foi coletado da camada de 0 a 20 cm de profundidade, na zona rural da região de Alta Floresta – MT, sendo caracterizado por Latossolo vermelho-amarelo.

Após a coleta do solo, uma amostra do mesmo foi enviada para análise no Laboratório de Análises de Solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso (LASAF), para a determinação das características químicas e granulométrica (Tabela 1), seguindo a metodologia da Embrapa (2009).

Tabela 1: Resultado da análise química de macronutrientes e granulometria do solo e da camada de 0 - 20 cm do solo utilizado no experimento de controle biológico de *Meloidogyne* spp. para a cultivar de alface Mediterrânea. Alta Floresta – MT, 2019.

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

Obs: Análises realizadas seguindo a metodologia da Embrapa (2009).

Fonte: Laboratório de Análises de Solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso – LASAF.

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

As espécies *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii* foram fornecidas pelo Laboratório de Nematologia da UNESP/FCAV de Jaboticabal-SP, sendo utilizados separadamente cada espécie. As populações foram multiplicadas em raízes de tomateiro 'Santa Cruz Kada' e quiabeiro 'Santa Cruz 47' durante 90 e 120 dias, respectivamente, após a inoculação. A extração dos fitopatógenos das raízes seguiu a metodologia de Coolen e D'Herdt (1972), para tanto, as raízes foram lavadas, picotadas, trituradas em liquidificador por 30 segundos em baixa rotação com solução de hipoclorito de sódio (0,5%), e depois submetidas à peneiramento, as peneiras utilizadas foram em malhas de 250 e 400 Mesh. A quantificação das suspensões foi realizada através de alíquotas de 1,0 mL, sobre lâmina de contagem (Peters) (HANDOO e GOLDEN, 1989; TIHOHOD, 1997), sendo a contagem realizada em microscópio ótico, assim se definiu a população inicial estipulada em 1500 indivíduos (ovos e juvenis de segundo estágio) por vaso, para todos os tratamentos. A inoculação no substrato com os fitonematoides foi realizada com o auxílio de micropipeta, com 20 mL de suspensão, realizada 24 horas antes dos transplântio das mudas de alface.

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

Os tratamentos TQ, TC e TP avaliados neste trabalho, é da espécie *T. atroviride*, fazem parte da coleção de fungos do Laboratório de Microbiologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus de Alta Floresta,

os três tratamentos foram isolados no município de Alta Floresta. As soluções dos *Trichoderma* sp. foram preparadas utilizando conídios.

Para o preparo das soluções utilizadas nos tratamentos com os isolados de *T. atroviride*, primeiramente foram produzidos esporos dos fungos a partir do colônias do fungo em meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA), em placas de Petri (90 mm Ø), sendo mantidas em câmaras de crescimento do tipo B.O.D (Biological Oxygen Demand), regulada para temperatura constante de 25 °C, com variação de $\pm 1^\circ\text{C}$, e o fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, durante 20 dias. Após esse tempo foi realizado o preparo da suspensão, na qual foi adicionado 10 mL de água destilada estéril por placa, e com auxílio da alça de Drigalski efetuou-se a fricção sobre o micélio (RODRIGUES C., 2014). Em seguida, uma alíquota de 100 μL da solução de esporos, foi depositada em câmara de Neubauer e observada em microscópio ótico a fim de efetuar a contagem dos esporos (Figura 1).

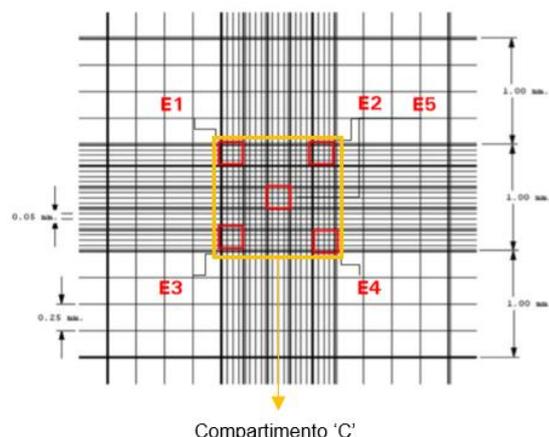


Figura 1: Esquema da câmara de Neubauer utilizado para orientação da área dos subcompartimentos em vermelhos utilizado para contagem dos conídios de *Trichoderma atroviride* (E1, E2, E3, E4 e E5).

Fonte: Pinto et al. (2011).

A contagem foi realizada no compartimento 'C' (1,0 mm²) da câmara de Neubauer, após a contagem os dados foram calculados pela equação proposta por Pinto et al. (2011) em que:

$$\text{Conídio mL}^{-1} = \left\{ \left[\frac{(\text{Campo 1} + \text{Campo 2})}{2} \right] \times 2,5 \times 10^5 \right\}$$

Onde: Campo 1=(E1+E2+E3+E4+E5) e Campo 2=(E1+E2+E3+E4+E5)

Quanto aos tratamentos TT, BS e AZ, oriundos de produtos comerciais, utilizou-se as recomendações dos fabricantes para o preparo das soluções. A quantidade de conídios (TT) e estirpes de bactérias (BS e AZ) foi mantida em $5,0 \times 10^6$ de conídios/bactérias por mL^{-1} para todos os tratamentos. O ajuste do número de esporos e estirpes de bactéria para a concentração desejada foi determinada com auxílio da seguinte equação:

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

Onde: C_i – Concentração inicial da suspensão de esporos (esporos/mL);

V_i – Volume inicial da suspensão (mL);

C_f – Concentração final desejada (esporos/mL);

V_f – volume final da suspensão (mL).

Após o preparo das soluções, as raízes das mudas de alface foram imersas por uma hora nas soluções de acordo com cada tratamento, que continham os microrganismos, e em seguida transplantadas nos vasos.

As avaliações foram realizadas aos 34 dias após o transplante das mudas. As variáveis avaliadas foram: altura da parte aérea, número de folha, diâmetro do caule, área foliar, massa fresca total da parte aérea, e massa fresca da parte aérea comercial.

A altura da parte aérea foi obtida através da medição da distância da base do caule até o ápice da parte aérea. As folhas de alface foram contadas, e posteriormente submetidas no determinador de área foliar (modelo LI 3100, LICOR®), para mensuração de área foliar. As determinações do diâmetro foram realizadas com auxílio de paquímetro (150mm - DIGIMESS-100170). Massas frescas da parte aérea foram determinadas em balança de precisão (0,0001), em que após a pesagem da parte aérea total, foram retiradas as folhas de alface que visualmente representavam deterioração ou sinais de ataque de patógenos e insetos, mantendo apenas as folhas que permitiam boa aparência e qualidade para a comercialização.

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

Resultados e discussão

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

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

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

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

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

Avaliando os agentes de controle biológicos dentro de espécies de *Meloidogyne* para o número de folhas (Tabela 3), verifica-se que na cultivar Mediterrânea as maiores médias foram para os tratamentos BS e CO na infestação com *M. javanica*, sendo que os demais apresentaram menor número de folhas. Quanto aos TQ, TC, TP, TT e AZ as maiores médias foram verificadas sobre infestação de *M. javanica* e *M. incognita*. Para Solaris foi observado que os tratamentos CO, BS e AZ as maiores médias se deu sobre infestação de *M. javanica*, enquanto a utilização de TQ e TC observou maior redução no número de folhas com a espécie *M. enterolobii*.

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

AC	Mediterrânea			Solaris		
	Número de folhas (uni)					
	Mj	Mi	Me	Mj	Mi	Me
CO	24,00 aA	20,63 bA	19,25 bA	17,50 aB	15,63 bA	14,25 bA
TQ	20,00 aB	21,25 aA	15,75 bB	16,38 aB	17,00 aA	11,63 bB
TC	23,00 aA	20,25 aA	17,00 bA	17,00 aB	16,25 aA	12,25 bB
TP	19,75 aB	20,13 aA	15,75 bB	16,3 aB	13,88 aB	15,63 aA
TT	22,00 aB	19,25 aA	14,88 bB	16,38 aB	16,63 aA	14,88 aA
BS	24,50 aA	19,25 bA	20,13 bA	20,6 aA	12,25 bB	14,75 bA
AZ	21,88 aB	19,00 aA	11,38 bC	18,50 aA	15,50 bA	14,1 bA
AC	Altura da parte aérea (cm)					
	Mj	Mi	Me	Mj	Mi	Me
	CO	23,21 aB	24,75 aB	24,50 aA	25,75 aA	27,05 aA
TQ	24,94 aB	27,63 aA	20,81 bB	25,00 aA	25,09 aA	23,9 aA
TC	28,00 aA	26,06 aA	22,81 bA	25,69 aA	26,13 aA	20,3 bA
TP	23,69 bB	28,19 aA	24,44 bA	23,94 aA	17,56 bB	23,19 aA
TT	27,88 aA	27,20 aA	22,63 bA	26,50 aA	19,50 bB	21,18 bA
BS	26,44 aA	22,88 aB	24,00 aA	27,31 aA	20,63 bB	22,38 bA
AZ	22,94 aB	25,00 aB	17,38 bB	25,06 aA	22,88 aA	22,19 aA
AC	Diâmetro do caule (cm)					
	Mj	Mi	Me	Mj	Mi	Me
	CO	19,39 aA	15,07 bB	14,81 bA	14,97 aA	13,21 aB
TQ	15,90 aB	17,58 aA	14,59 aA	14,06 aA	14,72 aA	12,10 bB
TC	15,52 aB	15,23 aB	14,77 aA	14,64 aA	14,75 aA	11,78 bB
TP	13,41 bC	18,07 aA	12,70 bB	14,75 aA	11,89 bB	14,33 aA
TT	16,75 aB	14,70 aB	15,47 aA	13,95 aA	14,15 aA	12,51 aB
BS	18,36 aA	15,29 bB	16,64 bA	14,91 aA	12,33 aB	13,72 aA
AZ	16,81 aB	15,31 aB	13,24 bB	15,18 aA	14,77 aA	14,24 aA

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

brasiliense (AZ), *M. javanica* (Mj), *M. incognita* (Mi), *M. enterolobii* (ME). agentes de controle biológico (AC).

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

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

A perda de produtividade pode ser observada no presente estudo com a redução do número de folhas que variou entre os fitonematoides, em destaque a patogenidade do *M. enterolobii*. Wilcken et al., (2005) testando a suscetibilidade de 22 cultivares de alface sobre os fitonematoides *M. incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii*, constataram que para *M. javanica* as alfaves foram 100% tolerante, quanto a *M. incognita* foi de 95%, enquanto *M. enterolobii* apresentou 50%, o que demonstra maior agressividade dessa espécie de fitonematoide para a cultura da alface.

Para Altura total da parte aérea comparando os agentes de controle biológico dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 3), a cultivar Mediterrânea nos tratamentos CO e BS não ocorreu diferenças entre os fitonematoides, Enquanto TQ, TC, TT e AZ, infestação por *M. enterolobii* observe as menores plantas. Para TP a infestação por *M. incognita* ocorreram as maiores alfaves. Em

relação a Solares não houve diferenças entre os fitonematoides para os tratamentos CO, TQ e AZ. Para TT e BS as maiores alturas foi sobre infestação de *M. javanica*. Enquanto TP sobre infestação de *M. incognita* verificou a menor altura de alface.

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

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

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

O diâmetro do caule quanto agentes biológicas de controle dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 3), para a cultivar Mediterrânea observa-se que não ocorreu diferença entre as espécies de fitonematoides quando tratada por TQ, TC e TT. Enquanto, que CO e BS a ação de *M. javanica* se mostrou menos prejudicial com maior diâmetro, e para TP o aumento foi verificado sobre a ação de *M. incognita*. Já para AZ houve a maior redução do diâmetro com a infestação de *M. enterolobii*. Para a cultivar Solaris observou que as três espécies de fitonematoides se diferenciaram quando aplicado TQ, TC e TT, sendo que para TQ e TC as menores médias de diâmetro foram verificado para a espécie *M. enterolobii*, e para TP foi *M. incognita*. Nota-se que a espécie *M. javanica* apresentou menor agressividade, independentemente dos microrganismos testados.

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

Cultivares de alface infestadas por *Meloidogyne* spp. tendem reduzir o diâmetro do caule com o aumentado da população do fitonematoide (RODRIGUES L.L, 2014). Os valores obtidos para o diâmetro do caule enfatizam a variação no potencial de cada um dos microrganismos estudados, independente dos fitonematoides, podendo deixar claro que o fato de um tratamento apresentar controle para uma espécie de *Meloidogyne* estudado, não necessariamente detém um potencial positivo para o efetivo controle do outro.

Entre os fitonematoides testados *M. incognita* foi o único que teve efeito notadamente pronunciado no aumento do diâmetro do caule para ambas

cultivares, quando aplicados os tratamentos AZ, TQ, TC, TP e TP. A maior parte dos tratamentos que influenciaram no aumento do diâmetro do caule, foram constituído por *T. atroviride*. Efeito positivo para o aumento do diâmetro utilizando produto à base do fungo *T. harzianum* para a cultura da alface também foi verificado por Rodrigues L.L. (2014).

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

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

Fontes de Variação	Mediterrânea			Solaris		
	AF (mm ²)	MFT (g)	MFC (g)	AF (mm ²)	MFT (g)	MFC (g)
M	30,41**	36,26**	31,49**	86,82**	24,95**	29,52**
AC	19,45**	8,78**	8,46**	26,37**	0,89 ns	3,90**
M x AC	19,66**	4,11**	3,89**	41,25**	3,73**	5,96**
CV (%)	18,19	26,13	27,63	14,73	29,18	26,26

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

Na Tabela 5 estão apresentados os desdobramentos da interação significativa entre espécies de *Meloidogyne* e agentes de controle para área foliar (AF), massa fresca total e comercial da parte aérea (MFT e MFC).

Tabela 5: Desdobramento significativo entre espécies de *Meloidogyne* e Agentes biológicos de Controle para área foliar (AF), Massa fresca total da parte aérea (MFT) e Massa fresca comercial da parte aérea (MFC) para as cultivares de alface Mediterrânea e Solaris submetida a diferentes agentes de controle

biólogo para o controle de *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*. Alta Floresta – MT, 2019.

AC	Mediterrânea			Solaris		
	Mj	Mi	Me	Mj	Mi	Me
	Área foliar (mm²)					
CO	1391,71 aA	1489,42 aA	1444,64 aA	1263,99 aB	635,77 bD	1176,74 aA
TQ	1651,88 aA	1533,55 aA	546,32 bC	867,91 bD	1531,36 aB	654,69 cB
TC	1480,22 aA	1633,66 aA	1461,21 aA	1322,81 aB	1416,93 aB	790,28 bB
TP	1514,91 aA	1627,42 aA	536,88 bC	1059,06 aC	440,40 bE	1195,53 aA
TT	1387,50 aA	659,97 bB	1204,50 aB	1202,12 bB	1446,97 aB	494,47 cC
BS	1595,79 aA	1488,41 aA	1596,36 aA	1467,73 bA	1738,76 aA	1089,89 cA
AZ	1338,23 aA	587,99 bB	1134,76 aB	1329,35 aB	1261,97 aC	651,86 bB
	Massa fresca total da parte aérea (g)					
	Mj	Mi	Me	Mj	Mi	Me
CO	133,44 aA	105,09 bA	99,31 bA	114,12 aA	65,78 bB	82,04 bA
TQ	118,54 aA	117,91 aA	59,64 bC	89,23 aA	105,90 aA	50,71 bB
TC	118,10 aA	109,13 aA	82,62 bB	100,01 aA	107,49 aA	67,50 bA
TP	94,15 aA	114,25 aA	49,86 bC	92,29 aA	56,08 bB	87,35 aA
TT	109,97 aA	69,42 bB	81,00 bB	102,72 aA	98,55 aA	54,55 bB
BS	130,52 aA	94,11 bA	116,19 aA	109,40 aA	83,35 bA	71,59 aA
AZ	107,97 aA	68,21 bB	40,99 cC	112,38 aA	91,31 bA	71,03 bA
	Massa fresca comercial da parte aérea (g)					
	Mj	Mi	Me	Mj	Mi	Me
CO	118,40 aA	94,20 bA	92,21 bA	87,9 aA	72,55 aC	56,90 bA
TQ	106,83 aA	107,31 aA	55,35 bB	76,34 aA	90,09 aB	44,17 bB
TC	95,49 aA	99,18 aA	72,73 bB	85,95 aA	95,51 aB	47,80 bA
TP	87,62 aA	105,90 aA	44,75 bC	79,43 aA	47,80 bC	74,72 aA
TT	98,17 aA	61,50 bB	65,17 bB	90,27 aA	87,96 aB	47,73 bB
BS	115,72 aA	105,00 aA	86,37 bA	90,58 bA	122,59 aA	62,9 cA
AZ	96,08 aA	60,44 bB	35,06 cC	96,77 aA	81,34 aB	30,25 bA

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

Para área foliar, considerando o efeito dos agentes biológicas de controle dentro de espécies de *Meloidogyne* (Tabela 5), pode-se observar para a cultivar

Mediterrânea as menores áreas se deram quando aplicado TQ e TP sobre infestado de *M. enterolobii*, e para TT e AZ para infestação *M. incognita*. Para Solaris os tratamentos TQ, TC, TT e BS observa maiores áreas sobre infestação *M. incognita*, e para CO e TP o aumento foi sobre a infestação de *M. javanica* e *M. enterolobii*. Já a aplicação de AZ o aumento da área foliar se deu para *M. javanica* e *M. enterolobii*.

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

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

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

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

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

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

Esses polissacarídeos extracelulares, com carga ou neutros, não só permitem a adesão da célula à superfície, mas também atuam como sistemas trocadores de íons, para captura e concentração de nutrientes da água (KASNOWSKI et al, 2001). Essa mucilagem, além de proteger o sistema radicular da planta, também serve de nutriente para a planta, e esse processo de colonização e multiplicação do microrganismo benéfico se dá de maneira

rápida, o que pode ser vantajoso para a cultura da alface, em que a fase vegetativa dura aproximadamente 35 dias.

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

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

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

No geral, alguns microrganismos utilizados no presente ensaio como agentes de controle biológico demonstraram serem promissores para a cultivar Mediterrânea, entretanto, a tolerância que esta cultivar possui, pode ter dado maior capacidade de suporte de campo quando submetida a ação de *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*, possibilitando bons resultados para a testemunha sem agente de controle. Por isso se faz importante à utilização de cultivares tolerantes, quando disponíveis, pois a tolerância a patógenos constitui uma prática de grande relevância para o manejo de nematoides na cultura da alface. Além da capacidade de reduzir a população do

nematoide, a tolerância de materiais genéticos à patógenos não apresenta riscos à saúde humana evitando assim o possível uso de produtos químicos por parte dos produtores (PINHEIRO et al., 2013).

O uso de métodos alternativos de controle biológico para a cultura da alface se faz necessário, mesmo que haja cultivares tolerantes, o que de acordo com Sgorlon et al. (2016) tem a finalidade de minimizar os prejuízos ocasionados por fitonematoides, isto porque o controle tradicional com rotação de cultura não tem se mostrado uma tarefa fácil devido a ampla gama de hospedeiros.

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

Conclusões

A utilização dos microrganismos avaliados, em destaque *Bacillus subtilis* e *T. atroviride* mostraram promissores para o controle das espécies de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. enterolobii* para a cultivar Solaris, seguida por Mediterrânea.

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, S.C. **Realidade e perspectivas para o uso de Azospirillum na cultura do milho**. Piracicaba: IPNI – International Plant Nutrition Institute Brazil. 32p., 2008 (IPNI. Informações Agronômicas, 122).

CARNEIRO, R. M. D.G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O. SANTOS, M. S. N. A. ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: *Meloidogynidae*), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, v. 28, n.2, p 177, 1996.

CAYROL, J. C.; RITTER M. Donnés recentes sur l'utilisation de champignons du sol comme antagonistes de nématodes. **Société Française de Parasitologie**, França, v. 2, p. 53-56, 1984.

CHAVES, P. P. N.; **Qualidade de mudas de alface inoculadas com *Trichoderma* E reação de plantas adultas de alface a nematoides de galhas na presença de *trichoderma***. 2013. 144p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins. Gurupi, 2015.

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

FAVARATO, L. F.; GUARÇOI, R. C.; SIQUEIRA, A. P. Produção de alface de primavera/verão sob diferentes sistemas de cultivo. **Revista Científica Intelletto**, Venda Nova do Imigrante, v. 2, n. 1, p. 16-28, 2017.

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.

FERRAZ, L.C.C.B. Métodos alternativos de controle de nematóides. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 172, p. 23-26, 1992.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. (Orgs.). **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 267p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FIORINI, C.V.A.; GOMES, L.A.A.; MALUF, W.R.; FIORINI, I.V.A.; DUARTE, R.P.F.; LICURSI, V. Avaliação de populações F2 de alface quanto à resistência aos nematoides das galhas e tolerância ao florescimento precoce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p. 299-302, 2005.

HANDOO, Z. A.; GOLDEN, A. M. A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus filipjev*, 1936 (lesion nematodes). **Journal of Nematology**, Bethesda, v. 21, n. 2, p. 202, 1989.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.

KASNOWSKI, M. C.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, p. 1-23 2010.

KAVINO, M.; SANKARASUBRAMANIAN, H.; KUMAR, N.; SARAVANAKUMAR, D; SAIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance in banana (*Musa* spp.) against Banana bunchy top virus (BBTV) by combining chitin with root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0. **European Journal of Plant Pathology**, v. 120, p. 353–362, 2008.

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula forenhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v.7, n. 2, p.39-43, 1999.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**, v. 3, Edgard Blücher: São Paulo, 2001, 593 p.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S.; FERREIRA, P.A.; FREITAS, L.G.; DHINGRA, O.D.; GARDIANO, C.G.; CARVALHO, S.L. Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 31, n. 2, p.78- 84, 2007.

MACHADO, A. C. Z.; KANEKO, L.; PINTO, Z. V. **Controle biológico**. In: BELOTG, R.; BELOT, J. L. Cuiabá: Instituto Mato-grossense do Algodão – IMAmt, Boletim de P&D. página 295 – 296, 2016.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. da; ANTONIOLLI, Z. I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MACHADO, V.; BERLITZ D.L.; MATSUMURA, A.T.S.; SANTIN, R.M.S.; GUIMARÃES, A.; DA SILVA, M. E.; FIUZA, L.M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 16, n.2, p.165-182, 2012.

MAFESSONI, A. B.; BAHIA, B. L.; SOUZA, I. V. B.; DA SILVA, R. F.; REBOUÇAS, T. N. H.; PORTO, J. S. Fungos antagonistas e suas combinações contra *Meloidogyne* spp. em solo de cultivo de tomate sem a presença de hospedeiro. **Acta Biológica Catarinense**, Joinville, v. 6, n. 3, p. 54-60, 2019.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: adubos e adubação**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 594p.

MATTEI, D.; HENKEMEIER, N. P.; HELING, A. L.; LORENZETTI, E.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R. Produtos fitossanitários biológicos disponíveis para agricultura e perspectivas de novos produtos. **Ciências agrárias**, v.124, 2017.

OLIVEIRA, C.M.G.; KUBO, R.K.; ROSA, J.M.O. Nematóide. In: CHAVES, A.L.R. (org.). **Aspectos Fitossanitários da Cultura da Alface**. São Paulo: Instituto Biológico, 126p., 2017.

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F. de. **Diagnose e controle alternativo de doenças em alface, alho, cebola e Brássicas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. 16 p. (Circular Técnica. Embrapa Hortaliças, 120).

PINHEIRO, J. B.; DA SILVA, G. O.; PEREIRA, R. B. **Nematoides na cultura da batata**. Embrapa Hortaliças, 2015. 12 p. (Embrapa Hortaliça. Circular Técnica, 143).

PINHEIRO, J.B.; PEREIRA, R.B.; CARVALHO, A.D.F.; RODRIGUES, C.S.; SUINAGA, F.A. **Manejo de nematoides na cultura da alface**. Embrapa Hortaliça, Brasília, 2013. 7 p. (Embrapa Hortaliça. Comunicado técnico, 124).

PINTO, Z. V.; BETTIOL, W.; LUCON, C. M. M.; MORANDI, M. A. B. Metodologia para avaliação da qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma* spp. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.36, p.488, 2011.

RODRIGUES, C. **Uso de extrato pirolenhoso de teca (*Tectona grandis*) no controle alternativo in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014. 74 p. Dissertação de Mestrado (Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos). Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2014.

RODRIGUES, L.L. Manejo de *Meloidogyne javanica* em cultivo de alface. 61 p. 2014. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.

SANTOS H. S.; SCAPIM C. A.; MACIEL S. L.; VIDA J. B.; SCHWAN-ESTRADA K. R. de F.; BRANDÃO FILHO J. U. T. Patogenicidade de *Meloidogyne javanica* em alface em função do tamanho de células de bandeja e idade de transplante das mudas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 253-259. 2006.

SCURRAH, M. L.; NIERE, B.; BRIDGE, J. **Nematodes Parasites of Solanum and Sweet Potatoes**. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (eds). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2 ed. Oxfordshire: CABI, p.193-219, 2 ed, 2005.

SGORLON, L. F. F. **Reação de cultivares de alface do grupo crespa aos nematoides de galhas**. 2016, 39p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2016.

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

SILVA, F. C. D. S. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes** (Vol. 627). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 2009. 627p.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant parasitic nematodes**. Wallingford, CABI Publishing, 282 p., 1991.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 372p. 1993.

TONINATO, B. O; SOUZA, D. H. G; PONTALTI, P. R; LOPES, A. P. M; DIAS-ARIEIRA, C. R. *Meloidogyne javanica* control in lettuce with fertilizers applied isolated or associated with biological product. **Horticultura Brasileira**, v. 37, p. 384-389, 2019.

WIETHAN, M. M. S. **Vermicompostagem e desenvolvimento inicial de alface em doses superiores de *Trichoderma***. 2015. 53p. Dissertação (Mestrado em Conservação em Agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

WILCKEN, S. R. S.; GARCIA, M. G. M.; SILVA, N. Resistência de alface tipo Americana a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 267-271, 2005.

ZAMIOUDIS, C.; PIETERSE, C. M. J. Modulation of host immunity by beneficial microbes. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Bethesda, v. 25, n. 2, p. 139–50, 2012.

3.2. MICRORGANISMOS COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM CULTIVARES DE ALFACE¹

¹ Artigo submetido no periódico "Scientia Plena".

Resumo – (Domingues, Samiele Camargo de Oliveira. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Dezembro de 2019. **Microrganismos como promotores de crescimento em cultivares de alface.** Orientador: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho. Co-orientador: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo).

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça mais consumida no Brasil, é fornecido in natura, o que faz necessário que seja de boa qualidade. É produzida durante o ano todo em grande quantidade, o que a torna altamente dependente do uso de fertilizantes, principalmente em solos tropicais. Uma alternativa para a redução dos fertilizantes químicos é a utilização de microrganismo promotores de crescimento. Objetivou-se avaliar o efeito dos microrganismos promotores de crescimento sobre duas cultivares de alface. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2 x 6, sendo duas cultivares (Mediterrânea e Solaris) sobre a atuação de seis promotores de crescimento (Testemunha, Três isolados de *Trichoderma atroviride*, *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*), com 6 repetições. Os tratamentos foram aplicados utilizando soluções, em que as raízes ficaram imersas durante uma hora, antes dos transplântio para os vasos. A quantidades de conídios ou estirpes de bactérias nas soluções utilizado foram $4,0 \times 10^7$ por mL⁻¹. Foram avaliadas: número total de folha, comprimento do caule, diâmetro do caule, altura da parte aérea, área foliar, massa fresca total e comercial da parte aérea, comprimento da raiz, massa fresca da raiz, massa seca da parte aérea total, e massa seca da raiz. A utilização dos promotores de crescimento demonstrou-se eficiente em ambas cultivares de alface avaliadas. A cultivar Mediterrânea em relação a cultivar Solares foi superior. Entre os tratamentos o que se mostraram mais eficientes foram os T. atroviride proporcionando aumentos significativos na altura total, comprimento de raiz, massa fresca e seca de raiz.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*; *Lactuca sativa* L.; *Trichoderma* spp.; *Bacillus subtilis*.

Abstract - (Domingues, Samiele Camargo de Oliveira. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Dezembro de 2019. **Microorganisms as growth promoters in lettuce cultivars.** Orientador: Dr. Marco Antonio Camillo de Carvalho. Co-orientador: Dr. Hudson de Oliveira Rabelo).

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most consumed vegetable in Brazil, it is supplied fresh, which makes it necessary to be of good quality. It is produced throughout the year in large quantities, which makes it highly dependent on the use of fertilizers, especially in tropical soils. An alternative for reducing chemical fertilizers is the use of growth-promoting microorganisms. The objective was to evaluate the effect of growth-promoting microorganisms on two lettuce cultivars. A completely randomized design was used in the 2 x 6 factorial scheme, with two cultivars (Mediterrânea and Solaris) on the performance of six growth promoters (Control, Three isolates of *Trichoderma atroviride*, *Bacillus subtilis* and *Azospirillum brasilense*), with 6 replications. The treatments were applied using solutions, in which the roots were immersed for one hour, before transplanting to the pots. The amounts of conidia or strains of bacteria in the solutions used were 4.0×10^7 per mL⁻¹. The following were evaluated: total leaf number, stem length, stem diameter, shoot height, leaf area, total and commercial shoot weight, root length, fresh root weight, total shoot dry mass, and dry root mass. The use of growth promoters proved to be efficient in both lettuce cultivars evaluated. The cultivar Mediterrânea compared to cultivar Solares was superior. Among the treatments that showed to be the most efficient were *T. atroviride*, providing significant increases in total height, root length, fresh and dry root mass.

Key-words: *Azospirillum brasilense*; *Lactuca sativa* L.; *Trichoderma* spp.; *Bacillus subtilis*

Introdução

Alface (*Lactuca sativa* L.) é uma olerícola folhosa que pertence à família Asteraceae. A cultura é popularmente consumida em todo mundo e amplamente cultivada, ocorrendo em praticamente todas as regiões do Brasil, desde que seja respeitado os aspectos de adaptação da cultivar (CARVALHO FILHO et al., 2009; BARBOSA, et al., 2018).

No Brasil, cultiva-se a alface em campo aberto, ambiente protegido, sistema hidropônico ou orgânico, geralmente pela agricultura familiar em pequenas áreas, normalmente vizinhas aos centros consumidores (cinturões verdes) (TAVARES et al., 2019). A necessidade de fornecimento de produtos *in natura* de boa qualidade, durante todo o ano faz que seja crescente a busca por novas tecnologias efetivas, de baixo custo e sustentáveis para o manejo da cultura da alface (MAGGI et al., 2006; BARBOSA, et al., 2018).

A alface é altamente dependente do uso de fertilizantes, principalmente em solos tropicais. Neste aspecto, a promoção do crescimento vegetal por microrganismos é uma alternativa viável para diminuição do uso de fertilizantes químicos, mantendo o intuito do aumento da produtividade (BARBOSA, et al., 2018; TAVARES et al., 2019). Os microrganismos promotores de crescimento conhecidos por RPCPs, são atóxicos ao homem e animais, possuem custo acessível, e são vantajosos, pois podem persistir no solo ou nas plantas, podendo dispensar reaplicações (BRAND, et al., 2007).

Entre os RPCPs encontra-se o gênero *Trichoderma* spp., fungo imperfeito, pertencente à Sub-divisão Deuteromycotina, ordem Hifomicetes e família Moniliaceae, o qual possui muitas espécies que são geneticamente distintas. Podem facilmente ser encontrados no mundo todo em praticamente todos os solos, presentes na rizosfera. Este gênero está relacionado ao aumento de produtividade, o que faz com que sejam amplamente estudados quanto a capacidade de promoção de crescimento vegetal, por isso há vários produtos comercializados disponíveis. (MELO, 1991; NAWROCKA, 2013).

Quanto a utilização de Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (BPCPs), é uma opção viável para diminuir o custo de produção e o impacto ambiental dos cultivos, é diminuir o uso de adubos nitrogenados e auxiliar nos incrementos de produtividade (MATOSO et al., 2016).

Apesar dos crescentes relatos sobre a promoção de crescimento por RPCPs em alface, e da grande gama de microrganismo que possuem essa capacidade, ainda são poucos os estudos desses na produção de olerícolas. Assim, com a finalidade de produzir alface de maneira competitiva e sustentável, dando ênfase à produtividade, qualidade, lucratividade e com um mínimo de impacto ao meio ambiente, buscou-se no presente trabalho avaliar o efeito de microrganismos promotores de crescimentos sobre duas cultivares de alface.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em ambiente protegido localizado em área experimental da Universidade do Estado de Mato Grosso – Alta Floresta, MT, Brasil. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2 x 6, sendo duas cultivares (BRS Mediterrânea e SVR 06511236 Solaris) na atuação de seis promotores de crescimento (testemunha sem promotores de crescimento (T0), *Trichoderma atroviride* isolado de couve (*Brassica oleracea*) (TC), *T. atroviride* isolado de cogumelo comestível (*Pleurotus pulmonarius*) (TP); *T. atroviride* isolado de quiabo (*Abelmoschus esculentus*) (TQ), Biobac® (*Bacillus subtilis*) (BS), e Nitro Geo AZ® (*Azospirillum brasilense*) (AZ)). Cada tratamento contou com 6 repetições, sendo duas mudas por vasos.

As unidades experimentais foram compostas por vasos, com capacidade de 3,0 dm³, os quais foram preenchidos com substrato na proporção solo e areia 3:1, em que ambos materiais foram esterilizados em autoclave por 90 minutos, a 121 °C (pressão de 1,0 atm). O solo utilizado foi coletado da camada de 0 a 0,20 m de profundidade, na zona rural da região de Alta Floresta – MT, sendo caracterizado por Latossolo vermelho-amarelo.

Após a coleta do solo, uma amostra do mesmo foi enviada para análise no laboratório de Análises de Solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso – LASAF, para a determinação das características químicas e granulométricas (Tabela 6), seguindo a metodologia da Embrapa (2009).

Tabela 6: Resultado da análise de solo utilizado no experimento de promotor de crescimento em cultivares de alface. Análise realizada no Laboratório de Análises de solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso - LASAF. Alta Floresta – MT, 2019.

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

Obs: Análises realizadas seguindo a metodologia da Embrapa (2009).

Fonte: Laboratório de Análises de Solo, Adubo e Foliar da Universidade do Estado de Mato Grosso – LASAF.

A adubação e a correção da fertilidade do solo seguiram as recomendações de Malavolta (1981) onde foram utilizados na semeadura 50 mg dm⁻³ de N (ureia – 45% de N), 200 mg dm⁻³ de P (Super Fosfato Simples – 18% P₂O₅) e 150 mg dm⁻³ de K (Cloreto de Potássio – 60% K₂O).

As mudas das cultivares (BRS Mediterrânea e SVR 06511236 Solaris) foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido com 150 células, utilizando substrato comercial Carolina Soil®, que é composto por turfa, vermiculita, resíduo orgânico, resíduo orgânico agroindustrial classe A, e calcário. Na semeadura, foram distribuídas duas sementes por célula, procedendo-se desbaste aos cinco dias após a emergência, deixando apenas a plântula maiores. As bandejas foram dispostas em ambiente protegido com irrigação por microaspersão, com 6 mm de água por dia. O transplântio para os vasos ocorreu aos 30 dias após a semeadura, quando as mudas apresentavam três folhas definitivas.

Os promotores de crescimento TQ, TP e TC avaliados neste trabalho, são isolados locais de *T. atroviride*, e fazem parte da coleção do Laboratório de Microbiologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT).

As soluções dos isolados dos *T. atroviride* foram preparadas utilizando conídios. Para o preparo, primeiramente foram produzidos esporos dos fungos a partir do colônias do fungo em meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA), em placas de Petri (90 mm Ø), sendo mantidas em câmaras de crescimento do tipo B.O.D (Biological Oxygen Demand), regulada para temperatura constante de 25 °C, com variação de ± 1°C, e o fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, durante 20 dias. Após esse tempo foi realizado o preparo da suspensão, na qual foi adicionado 10 mL de água destilada estéril por placa, e com auxílio da alça de Drigalski efetuou-se a fricção sobre o micélio (RODRIGUES, 2014)

Após o preparo das soluções, em uma alíquota de 100 µL da mesma, foi contabilizado a quantidades de esporos presentes em cada solução, utilizando a câmara de Neubauer, observada em microscópico ótico. A contagem foi realizada no compartimento 'C' (1 mm²) da câmara de Neubauer, após a contagem os dados foram calculados pela fórmula:

$$\text{Conídio mL}^{-1} = \left\{ \left[\frac{(\text{Campo 1} + \text{Campo 2})}{2} \right] \times 2,5 \times 10^5 \right\}$$

Onde: Campo 1=(E1+E2+E3+E4+E5) e Campo 2=(E1+E2+E3+E4+E5)

Quanto aos produtos comerciais, utilizou-se a recomendações dos fabricantes para o preparo das soluções. A quantidades de conídios ou estirpes de bactérias foi padrão para todos os tratamentos, sendo $2,5 \times 10^7$ de conídios ou bactérias por mL^{-1} , sendo que para cada tratamento foram preparados 1 L da solução. O ajuste de esporos e estipes de bactéria para a concentração deseje foi utilizada pela fórmula:

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

Onde: C_i – Concentração inicial da suspensão de esporos (esporos/mL);

V_i – Volume inicial da suspensão (mL);

C_f – Concentração final desejada (esporos/mL);

V_f – volume final da suspensão (mL).

Após o preparo das soluções, as raízes das mudas de alface foram imersas por uma hora nos respetivos tratamentos, com os microrganismos, e em seguida transplantadas nos vasos.

Realizou-se as avaliações com 30 dias após o transplântio das mudas. As variáveis avaliadas foram número total de folha, comprimento do caule, diâmetro do caule, altura da parte aérea, área foliar, massa fresca total da parte aérea, massa fresca comercial da parte aérea, comprimento de raiz, massa fresca da raiz, massa seca da parte aérea total, e massa seca da raiz.

O comprimento aéreo e da raiz, foi obtido através da determinação da distância entre a base do caule até a extremidade da parte aérea e raiz. As folhas de alface foram contadas, e posteriormente submetidas no determinador de área foliar (modelo LI 3100, LI-COR®), para mensuração de área foliar. As determinações do diâmetro e comprimento do caule, aforam realizadas com auxílio de paquímetro digital (150mm - DIGIMESS-100170). Massas verde e seca foram determinadas com auxílio de balança de precisão (0,0001g), após secagem dos materiais em estufa de circulação forçada de ar, regulada para 65 °C até a obtenção massa seca constante.

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

Resultados e Discussão

Conforme resultados obtidos (Tabela 7) para número de folhas verificou-se diferença significativa somente entre as cultivares, onde a cultivar mediterrânea apresentou maior média. O aumento no número de folhas é desejável, uma vez que pode vir a expandir a área fotossintética e assim elevar o potencial produtivo da cultura (TAVARES et al., 2019).

A diferença entre os promotores de crescimento para o número de folhas pode estar no fato que o sucesso da promoção de crescimento por bioagentes depende das propriedades e mecanismos de ação do organismo, que é complexa, sendo realizada através de interações entre fatores bioquímicos, produção de diversas enzimas, e compostos benéficos (MACHADO et al., 2012).

Tabela 7: Valores de F e coeficiente de variação CV (%) de plantas de alface em função de cultivar e tratamentos com microrganismos promotores de crescimento para número de folhas (NF), área foliar (AF), massa fresca da parte aérea comercial (MFCPA), massa fresca total da parte aérea (MFPAT), massa seca da parte aérea total (MSPAT). Alta Floresta - MT (2019).

	NF	AF	MFCPA	MFPAT	MSPAT
Cultivar (C)	uni	cm	g	g	g
Solaris	11,00 b	602,57	17,14	20,14	2,17 b
Mediterrânea	12,64 a	663,98	18,52	21,90	2,82 a
Valor de F	21,18**	3,98 ns	1,94 ns	1,66 ns	9,49**
Promotores de crescimento (PC)					
T0	12,25	636,59	17,03	19,53	2,49
TQ	12,33	704,62	18,35	22,75	2,99
TP	11,30	643,85	19,18	20,66	2,49
TC	11,34	606,25	16,84	18,74	2,35
BS	11,38	543,48	15,96	21,75	2,14
AZ	12,32	664,86	19,63	22,72	2,52
Valor de F	1,49 ns	2,11 ns	1,43 ns	1,01 ns	1,19 ns
Interação CxPC					
Valor de F	1,22 ns	1,78 ns	1,62 ns	0,81 ns	0,24 ns
CV(%)	12,80	20,62	23,51	27,32	35,96

Obs: ** e ns correspondem respectivamente a significativo a 1%, e não significativo de acordo com o teste de Scott-Knott. Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si ano nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. Tratamento: Testemunha (T0), três isolados de *Trichoderma atroviride* obtidos em quiabo (TQ), *Pleurotus pulmonarius* (TP), e couve (TC), *Bacillus subtilis*, (BS) *Azospirillum brasilense* (AZ). Cultivares de alface: BRS Mediterrânea e SVR 06511236 Solaris.

Em relação à área foliar, não foi observada diferença significativa entre as cultivares, promotores de crescimento, e a interação entre eles. Apesar da cultivar mediterrânea apresentar maior número de folhas, Solaris apresentam maior área foliar individualmente, o que fez que não aconteça diferenças significativa ente ambas cultivares.

Em relação à massa fresca da parte aérea comercial e total, não foi verificado diferença entre os níveis dos fatores cultivar e promotor, assim como também não foi observada interação significativa entre os mesmos.

Houve diferença entre as cultivares para massa seca da parte aérea total (Tabela 7), sendo a cultivar Mediterrânea superior à Solaris, em que este resultado reflete o maior número de folhas proporcionada por essa cultivar. Não foi verificada diferença entre os promotores e também interação entre os mesmos para essa cultivar.

Na Tabela 8 estão apresentados os desdobramentos da interação significativa entre cultivares e promotores para comprimento do caule (CC), diâmetro do caule (DC), altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz (CR), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz.

Para o comprimento do caule, não ocorreu diferença somente entre as cultivares, para os promotores TC e BS. Quanto a cultivar Solaris, os maiores comprimentos de caule foram verificados em TC e BS, já para a cultivar mediterrânea não foi observada diferença entre os promotores. Esse resultado demonstrou que ocorreu interação entre o material genético utilizado e os promotores. O comprimento do caule pode estar associado à tolerância da cultivar ao pendoamento precoce (TAVARES, et al., 2019).

Não foi observada diferença para o diâmetro de caule, em relação às cultivares somente entre os promotores TC e BS (Tabela 8). Os promotores BS e TC proporcionaram maior diâmetro de caule na cultivar Solaris. Já para a cultivar mediterrânea, não foi observada diferença entre os promotores.

Tabela 8: Desdobramento da interação significativa entre cultivares de alface e agentes de controle para comprimento do caule (CC), diâmetro do caule (DC), altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz (CR), massa fresca da raiz (MFR) e massa seca da raiz (MSR). Alta Floresta – MT, (2019).

Cultivar (C)	Promotor de crescimento (PC)					
	T0	TC	TP	TQ	BS	AZ
Comprimento do caule (cm)						
SL	3,15 b B	4,24 a A	3,50 b B	3,30 b B	4,20 a A	2,96 b B
MD	5,29 a A	4,17 b A	5,54 a A	4,79 b A	4,50 b A	4,04 b A
Valor de F 4,61**						
CV 17,65%						
Diâmetro do caule (mm)						
SL	10,12 b B	12,30 a A	10,96 b B	10,29 b B	12,60 a A	9,48 b B
MD	12,71 a A	12,17 a A	13,13 a A	12,35 a A	13,37 a A	12,26 a A
Valor de F 2,45*						
CV 10,73%						
Altura da parte aérea (cm)						
SL	16,00 a B	17,66 a A	16,90 a B	18,13 a A	17,35 a A	8,98 b B
MD	20,07 a A	17,40 b A	20,66 a A	19,13 a A	15,81 b A	17,60 b A
Valor de F 8,67**						
CV 12,39%						
Comprimento da raiz (cm)						
SL	26,38 a A	20,71 b A	19,17 b A	15,05 b B	20,79 b A	20,47 b A
MD	20,67 a B	23,60 a A	24,48 a A	21,51 a A	22,03 a A	22,46 a A
Valor de F 2,56*						
CV 22,19%						
Massa fresca da raiz (g)						
SL	7,59 b A	10,24 a A	7,01 b B	8,76 a B	9,60 a A	6,58 b B
MD	6,36 c A	7,58 c B	14,80 a A	13,57 a A	10,09 b A	12,75 a A
Valor de F 17,19**						
CV 18,64%						
Massa seca da raiz (g)						
SL	0,90 a A	1,40 a A	0,95 a B	0,88 a B	1,23 a A	0,83 a A
MD	1,29 b A	1,63 b A	3,02 a A	2,01 a A	1,25 b A	1,57 b A
Valor de F 3,85**						
CV 50,26%						

Obs: **, * e correspondem respectivamente a 1%, 5% de significância de acordo com o teste de Scott-Knott. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, e minúscula na linha não diferem entre si no nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. pelo teste de Scott-Knott. Tratamento: Testemunha (T0), três isolados de *Trichoderma atroviride* obtidos em quiabo (TQ), *Pleurotus pulmonarius* (TP), e couve (TC), *Bacillus subtilis*, (BS) *Azospirillum brasilense* (AZ). Cultivares de alface: BRS Mediterrânea (MD) e SVR 06511236 Solaris (SL).

Foi observada diferença significativa entre as cultivares para altura da parte aérea nos promotores T0, TP, TC e AZ, com maior média em todos da cultivar mediterrânea, indicando que estes promotores não foram capazes de influenciar esta variável, pois não diferiram da testemunha (T0). Os promotores TQ, TC e BS proporcionaram as maiores alturas na cultivar Solaris, já para cultivar Mediterrânea, não foi verificada diferença entre os promotores.

Em relação ao comprimento de raiz (Tabela 8), verificou-se diferença entre as cultivares em T0, com maior média para cultivar Solaris e em TQ com maior média para cultivar Mediterrânea. Na cultivar Solaris o maior comprimento de raiz foi observado na testemunha T0, a qual foi superior aos demais promotores. Para a cultivar Mediterrânea, não foi observada diferença entre os promotores evidenciando menor efeito desses nesta cultivar.

Para massa fresca de raiz no promotor TC Foi observada diferença significativa entre as cultivares havendo maiores valores de massa para a cultivar Solaris, e nos promotores TP, TQ e AZ, com maior massa para a cultivar Mediterrânea.

Para Solaris, a maior massa fresca de raiz foi observada no promotor TC, o qual não diferiu somente de TQ e BS. A maior massa fresca de raiz para Mediterrânea foi verificada em TP o qual não diferiu de TQ e AZ.

Houve diferença para massa seca de raiz entre as cultivares em TP e TQ observando-se superioridade da cultivar Mediterrânea (Tabela 3). Na cultivar Solaris, a menor massa seca de raiz foi verificada em TQ, já para a cultivar Mediterrânea não se verificou diferença entre os promotores.

Os microrganismos *B. subtilis* (BS) e *T. atroviride* (TC), que se destacaram como promotores de crescimento quando utilizada para a cultivar Solaris.

B. subtilis pode favorecer o desempenho de culturas, pois se trata de uma bactéria gram-positiva não patogênica, amplamente utilizada. O aumento de biomassa segundo Lima (2010) deve-se ao fato desse gênero possuir mecanismos de ação isolados, que apresentam características em promover o crescimento vegetal.

O modo de ação do *B. subtilis* em estimular o aumento da produtividade nas culturas, possivelmente pode ocorrer devido à capacidade dessas bactérias em atuarem pela produção de fitormônios de crescimento, como auxinas e

giberelinas, pectinase ou sinais moleculares, também demonstram que são capazes de elevar a disponibilização do fósforo em estádios mais avançados do desenvolvimento (LANNA FILHO et al., 2010; ZUCARELI et al., 2018).

De acordo com Mattos et al. (2007), alfaces sobre estresse que são produzidas em temperaturas elevadas, podem ocasionar efeito que alteram seu metabólicos, o que pode levar nos tecidos vegetais a elevação da atividade respiratória e evolução de etileno. O etileno, quando se acumula no interior dos tecidos, promove o aumento da respiração, estimula diversos processos metabólicos e, conseqüentemente reduz a qualidade dessa hortaliça (HONÓRIO; MORETTI, 2002).

Na alface, o acúmulo do etileno estimula a paralização do desenvolvimento da raiz, bactérias RPCP são capazes de estimular o crescimento das plantas atuando na redução dos níveis de etileno através da ação da enzima ACC desaminase, essa redução nas raízes de plantas hospedeiras resultando em seu alongamento (GLICK et al., 1998; PRIGENT-COMBARET et al., 2008). A promoção do crescimento radicular é um dos efeitos benéficos dos RPCP, pois o estabelecimento rápido de raízes laterais e adventícias é uma característica vantajosa para plantas, aumentando a habilidade de se fixar ao solo e obter água e nutrientes do ambiente (MATTOS et al., 2007). A capacidade dos promotores em estimularem o crescimento vegetal pode estar diretamente relacionada à habilidade desses microrganismos em colonizarem e sobreviverem no solo e/ou rizosfera das plantas onde forem introduzidos (HARMAN et al., 2004; CRUZ, 2010; AZEVEDO FILHO et al., 2011).

Em relação a *T. atroviride*, Nawrocka (2013), a forma de ação de algumas cepas de *Trichoderma* sp. está na capacidade de fornecer as plantas nutrientes e fitohormônios, como a produção de ácido indol-acético (AIA), que influencia no crescimento das plantas, embora seja mais provável que este gênero de fungo estimule o crescimento por influenciarem no equilíbrio dos hormônios, tais como AIA, ácido giberélico e etileno, interferindo também no seu metabolismo de hidratos de carbono e na fotossíntese, contribuindo para o crescimento de raiz e acúmulo de massa.

Os valores obtidos no presente estudo enfatizam a variação de resposta dos três isolados de *T. atroviride* (TQ, TP e TC) entre as variáveis, podendo

deixar claro que o fato de um isolado apresentar bom efeito para um cultivar, não necessariamente detém um potencial positivo para a outra. Hoyos-Carvajal et al. (2009) avaliaram a produção de metabólitos de 101 isolados de *Trichoderma* spp. na Colômbia e verificaram que 20% das cepas foram capazes de produzir formas solúveis de fosfato de rocha fosfática, sendo que 8% das amostras avaliadas demonstraram capacidade de produzir sideróforos consistentes para converter ferro a formas solúveis, 60% produziram ácido indol-3-acético (IAA) ou análogos a auxina, este resultado demonstra a singularidades das cepas, o que as podem estar distinguindo como promotores de crescimento.

Entres as vantagens de se utilizar esses microrganismos, é que ambos possuem capacidade sideróforos, que são moléculas secretadas que os microrganismos utilizam para promoverem a captação ambiental de ferro de baixo peso molecular, e posteriormente internalizadas para fornecer esse essencial metal, que é forma de complexo sideróforo-Fe³⁺ (CANESCHI et al., 2019).

Outro tratamento que contribuiu com o aumento da massa fresca de raiz foi AZ, sendo que o uso de rizobactérias, em destaque encontra-se o gênero *Azospirillum* (ARAÚJO, 2008), um microrganismo com potencial de promotor do crescimento das plantas (PGPR) (COELHO et al., 2019). De acordo com Sahariana e Nehra (2011), esse grupo de rizobactérias colonizam de forma agressiva as raízes das plantas, fornecendo crescimento através de vários efeitos, como estimulantes do crescimento radicular.

A resposta positiva para os isolados locais de *T. atroviride*, se faz importante para a obtenção de novas estirpes, com maior capacidade de promover o crescimento, porque os mecanismos de ação dos PGPR são específicos e podem variar conforme a cultura e o ambiente, como a interferência de outros microrganismos, substrato, temperatura e umidade (MACHADO, et al. 2012). Por isso a contribuição de se estudar espécies promotores locais já adaptadas à região podem favorecer ainda mais resposta positiva entre relação 'Microrganismo-Planta-Ambiente'.

Conclusões

A utilização dos promotores de controle se demonstra eficiente para promover o crescimento vegetal para ambas cultivares de alface avaliadas. Entre os promotores de crescimento, o que se mostraram mais eficientes foram os isolados de *T. atroviride* (TC e TQ), proporcionando diferença entre as cultivares. A cultivar Mediterrânea, teve maior quantidade de folhas, massa seca total da parte aérea, e comprimento de raiz, foi superior a Solares em relação à massa fresca de raiz, quando utilizado os tratamentos *T. atroviride* (TC e TQ), *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*. A cultivar Solaris teve aumento no comprimento do caule, diâmetro do caule, e altura da parte aérea, e foi superior para à massa seca da raiz, quando utilizou os *T. atroviride* (TC e TQ).

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, L. M.; HUERGO, L. F.; INVITTI, A. L.; GIMENES, C. I.; BONATTO, A. C.; MONTEIRO, R. A.; CHUBATSU, L. S. Different responses of the GlnB and GlnZ proteins upon in vitro uridylylation by the *Azospirillum brasilense* GlnD protein. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 41, n. 4, p.289-294, 2008.

AZEVEDO FILHO, J. A.; LUCON, C. M. M.; DUARTE, L. M. L.; CHAVES, A. L. R.; DONADELLI, A.; ALEXANDRE, M. A. V.; KANO, C. Efeito da aplicação de maravilha (*Mirabilis jalapa* L.), primavera (*Bougainvillea spectabilis* L.) e isolados de *Trichoderma* na produção de alface. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, especial, p.612-618, 2011.

BARBOSA, J.; OLIVEIRA, J., BARBOSA, J.; MARTINS FLHO, A.; MEDEIROS, E.; KUKLINSKY-SOBRA, J. Influência de esterco bovino e microrganismo promotores de crescimento na cultura da Alface (*Lactuca sativa* L.), no município de Garanhuns, PE. **Cadernos de Agroecologia**, Brasília v. 13, n.1, p. 1-7, 2018.

BRAND, S. C.; MANZONI, C. G.; JUNGES, E.; DURIGON, M. R.; MILANESI, P.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B; Extrato de cancorosa (*Maytenus ilicifolia*) não inibe *Trichoderma* sp. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Guarapari, v. 2, n. 2, p. 1-4, 2007.

CANESCHI, W. L.; SANCHEZ, A. B.; PEREIRA, J. G.; GARCIA, C. C. M.; MOREIRA, L. M. Isolamento e purificação de sideróforos bacterianos: uma abordagem educacional multidisciplinar. **Revista de Ensino de Bioquímica**, São Paulo, v.17, p. 61-73, 2019.

CARVALHO FILHO, J. L. S. de; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R. Tolerância ao florescimento precoce e características comerciais de progênies F4 de alface do cruzamento Regina 71 x Salinas 88. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 37-42, 2009.

COELHO, B. A.; DIAS, V. C.; PELÚZIO, J. M.; DE SOUZA; C. M.; DE SIQUEIRA, G. B.; DOS SANTOS, W. F. Productivity of the corn cultivated under low latitude in the inter-crop inoculated with *Azospirillum brasilense* with different doses of nitrogen. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Amapá, v. 6, n. 1, p.18-28, 2019.

CRUZ, J. L. G. D. **Efeito de *Trichoderma* spp. no potencial fisiológico de sementes e mudas de melão**. 67p. 2010. Dissertação (Produção Vegetal) – Universidade Federal de Santa Maria, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GLICK, B. R.; PENROSE, D. M.; LI, J. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. **Journal of Theoretical Biology**, Amsterdam, v.190, n.1, p.63-68, 1998.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Review Microbiology**, v. 2, p. 43–56, 2004.

HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. Fisiologia pós-colheita de frutas e hortaliças. In: CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. **Resfriamento de frutas e hortaliças**, Brasília, v. 1, (s.n.), p. 60-94, 2002.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological control**, Łódź, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.

LANNA FILHO R; FERRO HM, PINHO RSC. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, São Luís, v.4, n.2, p. 12-20, 2010.

LIMA, F. F. *Bacillus subtilis* e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho. 54p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. DA; ANTONIOLLI, Z. I. Trichoderma no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012.

MAGGI, M. F.; KLAR, A. E.; JADOSKI, C. J.; ANDRADE, A. R. S. Produção de variedades de alface sob diferentes potenciais de água no solo em ambiente protegido. **Irriga**, Botucatu, v.11, n. 3, p. 415-427, 2006.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: adubos e adubação**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 594p.

MATTOS, L. M.; MORETTI, C. L.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Atividade respiratória e evolução de etileno em alface crespa minimamente processada armazenada sob duas temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1985-1990, 2008.

MATOSO, E. S.; DE MARCO, E.; BELLÉ, C., RODRIGUES, T. A.; DOS ANJOS, S. D. Desenvolvimento inicial de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, Bagé, v. 13, n. 1, p. 412-434, (2016).

MELO, I. S. Potencialidades de utilização de Trichoderma spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA. p. 135-156, 1991.

NAWROCKA, J.; MAŁOLEPSZA, U. Diversity in plant systemic resistance induced by Trichoderma. **Biological control**, Łódź, v.67, n.2, p. 149-156, 2013.

PRIGENT-COMBARET, C.; BLAHA, D.; POTHIER, J. F.; VIAL, L.; POIRIER, M. A.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; MOËNNE-LOCCOZ, Y. Physical organization and phylogenetic analysis of *acdR* as leucineresponsive regulator of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase gene *acdS* in phytobeneficial *Azospirillum lipoferum* 4B and other Proteobacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, Plymouth, v.65, n.1, p.202-219, 2008.

RODRIGUES, C. **Uso de extrato pirolenhoso de Teca (*Tectona grandis*) no controle alternativo in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014. 74 p. Dissertação de Mestrado (Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos). Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2014.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medicine Research**, Kurukshetra, v. 21, n. 1, p. 30, 2011.

SILVA, F. C. D. S. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes** (Vol. 627). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 2009. 627p.

TAVARES, A. T.; VAZ, J. C.; HAESBAERT, F. M.; REYES, I. D. P.; ROSA, P. H. L.; FERREIRA, T. A.; NASCIMENTO, I. R. Adubação NPK como promotor de crescimento em alface. **Agri-Environmental Sciences**, Palmas, v. 5, p. 1-9, 2019.

ZUCARELI, C.; BARZAN, R.R.; SILVA, J.B.; CHAVES, D.P. Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 65, n. 2, p. 1793-1802, 2018.

CONCLUSÕES GERAIS

Os agentes de controle biológicos avaliados se mostraram promissores para o controle dos *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, e *M. enterolobii*, esse controle dependeu do fitonematoide avaliado, da cultivar e dos microrganismos. Para as cultivares Mediterrânea e Solaris, o melhor efeito foi com *Bacillus subtilis* para maioria das variáveis analisadas, e em alguns casos *T. atroviride* também se destacou.

Quanto aos promotores de crescimento demonstra eficiente para ambas cultivares de alface avaliadas. A cultivar Mediterrânea em relação a cultivar Solares obteve maior quantidade de folhas, massa seca total da parte aérea, e comprimento de raiz. A cultivar Solaris teve aumento no comprimento do caule, diâmetro do caule, e altura da parte aérea. Ocorreu diferença entre as cultivares para massa fresca da raiz, e massa seca da raiz, onde a cultivar Mediterrânea foi superior em relação à massa fresca de raiz, quando utilizado os tratamentos *T. atroviride* (TP e TC), *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*. A cultivar Solaris foi superior para a massa seca da raiz, quando utilizou os *T. atroviride* (TP e TC), Entre os tratamentos o que se mostrou eficiente foram os *T. atroviride* proporcionando aumentos significativos na altura total, comprimento de raiz, massa fresca e seca de raiz.