

UFRRJ

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

DISSERTAÇÃO

**Efeito do Biofertilizante Agrobio no Controle de
Meloidogyne javanica na Cultura do Tomateiro**

Claudio Adriano de Jesus Nascimento

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**EFEITO DO BIOFERTILIZANTE AGROBIO NO CONTROLE DE
MELOIDOGYNE JAVANICA NA CULTURA DO TOMATEIRO**

CLAUDIO ADRIANO DE JESUS NASCIMENTO

Sob a orientação do Pesquisador

Gustavo Ribeiro Xavier

e co-orientação da Professora

Dalila Sêni Buonicontro

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo, Área de Concentração em Biologia do Solo.

Seropédica, RJ
Julho de 2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N244e	<p>Nascimento, Claudio Adriano de Jesus, 1995- Efeito do biofertilizante Agrobio no controle de <i>Meloidogyne javanica</i> na cultura do tomateiro/Claudio Adriano de Jesus Nascimento. – Seropédica, 2021. 33 f.: il.</p> <p>Orientador: Gustavo Ribeiro Xavier. Dissertação (Mestrado). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2021. Xavier, Gustavo Ribeiro, 1973-, orient. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo III. Título.</p>
-------	--

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO

CLAUDIO ADRIANO DE JESUS NASCIMENTO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, área de concentração em Biologia do Solo.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 28/07/2021.

Gustavo Ribeiro Xavier. Dr. Embrapa Agrobiologia
(Orientador)

Ricardo Luís Louro Berbara. Ph.D. UFRRJ

Norma Gouvea Rumjanek. Dra. Embrapa Agrobiologia

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”.

Simone de Beauvoir

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, a minha mãe Marinalva Jesus do Nascimento, aos meus irmãos e minhas filhas (Julie Fernanda, Lolla Fernanda e Maria Leopoldina).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por conduzir meus passos, guiar em todas as decisões e pela conclusão de mais uma das várias etapas da vida.

Quero agradecer a minha família, em especial a minha mãe, Marinalva Jesus do Nascimento pelo apoio incondicional, suporte, compreensão, conselhos, incentivos, disposição, carinho e por ser uma das maiores incentivadoras durante toda essa caminhada e ser meu maior exemplo de vida de que nada é impossível quando sonhamos com fé. Aos meus irmãos, João Victor e Luis Gustavo por me aturarem em todos os momentos de estresse em casa. Ao meu padrasto Elisvanilton Borges por todo suporte. A minha tia Geylza Nascimento, meus primos Alexandre Nascimento e Jaqueline Nascimento por todo incentivo e amor. Não poderia deixar de agradecer às minhas filhas, Julie Fernanda, Lolla Fernanda e Maria Leopoldina por me ensinar todos os dias sobre amar.

Agradeço a minha avó, Nailde Domigas Silva por todo incentivo, e por sempre acreditar em mim, sei que ultimamente a senhora não entende o motivo da minha ausência, mas em minhas orações sempre peço a Deus que lhe guarde e a proteja.

Aos meus eternos orientadores durante a minha trajetória na UEMA, Prof^o José de Ribamar Silva Barros, Prof^o Chistoph Gehring, Camila Nobre e Camila Magalhães por serem anjos da guarda em minha vida. Seus conselhos foram os mais valiosos para minha chegada até aqui, aliás sem vocês, parte disso não estaria acontecendo.

A minha grande amiga e irmã Paula Fernanda Alves Ferreira, por ser outro anjo da guarda em minha vida também. Se não fosse ter conhecido você lá no IF, nada disso estaria acontecendo em minha vida. Você é um dos meus presentes de Deus, sei que em você eu posso contar e confiar de olhos fechados.

Ao meu grande amigo Wallyson Santos Araújo, por todo companheirismo, suporte, conversas e ajuda quando possível, você foi de suma importância nesta caminhada.

Aos meus orientadores para condução dessa dissertação, Gustavo Ribeiro Xavier, Dalila Sêni Bounicontro.

As minhas companheiras de laboratório, Amanda Honório, Marcela Freitas e Andressa Fonseca, por todo companheirismo.

A minha grande amiga Adryelle Anchieta, por todo carinho e motivação.

A todos os amigos que fiz durante esse período em Seropédica e Viçosa.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo pela oportunidade de ingressar em uma Pós-graduação.

À Universidade Federal de Viçosa, onde desenvolvo minha pesquisa.

À CAPES, CNPq E FAPERJ, pela concessão da bolsa.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho e me acompanham em minha vida pessoal, e não foram nominalmente citados.

BIOGRAFIA

Claudio Adriano de Jesus Nascimento, filho de Marinalva Jesus do Nascimento, nasceu em 15 de fevereiro de 1995, na cidade de São Luís, estado do Maranhão. Iniciou os estudos na Escola Newton Neves, na cidade de São Luís, capital do Maranhão, onde cursou até a 8ª série. No ano de 2010 ingressou no ensino médio na escola Gonçalves Dias e concluiu em 2012. Ingressou no curso de Agronomia em 2014, por meio do vestibular tradicional para o curso de na Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), e esta escolha foi relacionada a vivência com seu avô no interior do Estado e por conta da abrangente grade curricular, que interliga diversas áreas e ciências. Este curso lhe proporcionou muitas experiências relativas à profissão, ao relacionamento pessoal, bem como a oportunidade de conhecer diversos lugares do Brasil e viagens ao exterior por meio das disciplinas, estágios, congressos e encontros acadêmicos. Na graduação foi bolsista de iniciação durante quatro anos, e monitor de diversas disciplinas como Sistemática Vegetal, Genética Agrônômica e Genética. No penúltimo período da graduação consegui cumprir todos os créditos necessários para obtenção de título de engenheiro agrônomo e em março de 2019, ingressou no curso de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo da UFRRJ.

RESUMO

NASCIMENTO, Claudio Adriano de Jesus. **Efeito do biofertilizante Agrobio no controle de *Meloidogyne javanica* na cultura do tomateiro.** 2021. 33f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

Os biofertilizantes além da função como adubo orgânico, atuam como agente de controle de pragas e doenças. Tendo em vista que o controle de nematoides do gênero *Meloidogyne* ssp. por meio de nematicidas não é atraente para a agricultura devido aos seus altos custos e elevada toxicidade, torna-se necessário a busca por uma alternativa mais viável para o manejo desses fitopatógenos. Neste sentido, o uso de biofertilizantes, como biocontrole, torna-se uma ferramenta bastante viável, mas vem ganhando pouco destaque. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de controle de nematoides da espécie *Meloidogyne javanica* na cultura do tomate por meio da aplicação do biofertilizante Agrobio no solo. Inicialmente foram avaliados os efeitos fitotóxicos em sementes e mudas para determinação da concentração ótima. Após 15 dias foram avaliados os índices: percentagem relativa de germinação de sementes (RSG); e a percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG) e o índice de germinação (GI). A fitotoxicidade em mudas foi avaliada por meio da escala de fitotoxicidade, com avaliações periódicas duas vezes ao dia ao longo de 14 dias. Em seguida foram montados ensaios *in vitro* para verificar a concentração de efeito sobre a mortalidade e eclosão de ovos de *Meloidogyne javanica*. O teste de mortalidade e eclosão foram montados em DIC com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram compostos por cinco concentrações do biofertilizante Agrobio (0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%). No teste de mortalidade cada parcela recebeu aproximadamente 50 juvenis de segundo estágio (J2). A mortalidade foi avaliada em três tempos (24, 48 e 72 h). No teste de eclosão, foram adicionados em cada parcela 50 ovos de *M. javanica*. As leituras das placas foram feitas durante 10 dias, a cada 24 h. Logo após isso, foram realizados os testes de parasitismo de *M. javanica* na planta de tomate cv Santa Clara. O delineamento experimental utilizado foi em DBC, com esquema fatorial 3x7 com seis repetições, sendo utilizados três níveis do inóculo de *M. javanica* (500, 1000 e 2000 ovos por planta), sete esquemas de aplicações (7DAT, 1DT, 15 DAE, 30 DAE, 45 DAE, 60 DAE e controle sem aplicação) em solo. Os parâmetros avaliados foram: Índice de massa de ovos (IMO); Índice de galhas (IG); Peso do sistema radicular (PR); Número de ovos por grama de raiz (NGR) e Fator de reprodução (FR). Além disso, foram avaliados os parâmetros agrônômicos como: Altura das plantas (ALT); Diâmetro da haste (DC); Número de folhas (NF); Massa fresca total (MFT); Massa seca das folhas (MSF); Massa seca da haste (MSH), Massa seca total (MST) da parte aérea das plantas. Houve efeito fitotóxico na aplicação de sementes nas concentrações testadas, interferindo assim na porcentagem de sementes germinadas e comprimento de raízes. Na fase de muda, não foi observado nenhum efeito de fitotóxico. Nos testes *in vitro*, a partir de 72 h, o biofertilizante apresentou ação nematicida na mortalidade de J2 e efeito inibitório no processo de eclosão de ovos. Em experimento conduzido em casa de vegetação, os três níveis de inóculos testados em diferentes esquemas de aplicação do biofertilizante Agrobio não demonstraram efeitos significativos em relação ao índice de massa de ovos, índice de galhas, peso de raiz, número de ovos e fator de reprodução. Em relação aos parâmetros agrônômicos, também não foi observado efeito significativo do produto e nível de inóculo. Esses resultados demonstram que o uso do biofertilizante Agrobio, nas condições testadas, não apresenta efeito nematicida sobre *M. javanica*.

Palavras-chave: Adubo orgânico. Biocontrole. Fitopatógenos. Nematoides.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Claudio Adriano de Jesus. **Effect of the biofertilizer Agrobio on the control of *Meloidogyne javanica* in tomato.** 2021. 33p. Dissertation (Master in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

Biofertilizers, in addition to their function as an organic fertilizer, acts as an agent to control pests and diseases. Considering that the control of nematodes of the genus *Meloidogyne* ssp. through nematicides is not attractive for agriculture due to its high costs and high toxicity, it is necessary to search for a more viable alternative for the management of these phytopathogens. In this sense, the use of biofertilizers, as biocontrol, becomes a very viable tool, but it has been gaining little prominence. This work aimed to evaluate the control potential of the *Meloidogyne javanica* species in tomato crops through the application of the agrobio biofertilizer in the soil. Initially, the phytotoxic effects on seeds and seedlings were evaluated to determine the optimal concentration. The indices were evaluated after 15 days: relative percentage of seed germination (RSG); the relative percentage of the length of the roots (RRG), and the germination index (GI). The phytotoxicity in seedlings was evaluated using the phytotoxicity scale, with periodic evaluations twice a day for 14 days. Then, tests in vitro were set up to verify the effect concentration on the mortality and hatching of *Meloidogyne javanica* eggs. The mortality and hatching tests were set up in DIC with six treatments and six replications. The treatments consisted of five concentrations of Agrobio biofertilizer (0%, 5%, 10%, 15%, 20% and 25%). In the mortality test, each plot received approximately 50 second-stage juveniles (J2). Mortality was assessed three times (24, 48, and 72 h). Egg hatch assay counted 50 eggs of *M. javanica* per plot. Plate readings were taken for 10 days, every 24 h. Soon after that, tests for parasitism of *M. javanica* were performed on the tomato plant cv Santa Clara. The experimental design used was in DBC, with a 3x7 factorial scheme with six replications, using three levels of *M. javanica* inoculum (500, 1000, and 2000 eggs per plant), seven application schemes (7DAT, 1DT, 15 DAE, 30 DAE, 45 DAE, 60 DAE and control without application) in soil. The parameters evaluated were: egg mass index (IMO); Gall Index (GI); Root system weight (PR); Number of eggs per gram of root (NGR) and Reproduction factor (FR). In addition, agronomic parameters were evaluated such as Plant height (ALT); Rod diameter (DC); Number of leaves (NF); Total Fresh Matter (MFT); Dry matter of leaves (MSF); Stem dry matter (MSH), Total dry matter (MST) of the shoot. There was a phytotoxic effect in the application of seeds at the concentrations tested, thus interfering with the percentage of germinated seeds and root length. In the seedling phase, no phytotoxicity effect was observed. The in vitro tests, from 72 h, the biofertilizer showed a nematicidal action on J2 mortality and an inhibitory effect on the egg hatching process. The three inoculum levels tested in different application schemes of Agrobio biofertilizer did not show significant effects in relation to egg matter index, gall index, root weight, number of eggs, and reproduction factor. We also not observed a significant effect of the product and inoculum level in relation to the agronomic parameters. These results demonstrate that the use of Agrobio biofertilizer, under the conditions tested, has no nematicidal effect on *M. javanica*.

Key words: Organic fertilizer. Biocontrol. Phytopathogens. Nematodes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo para obtenção de ovos de <i>Meloidogyne javanica</i> . A) Preparo das mudas, B) Infestação do substrato com os ovos e C) Raízes infectadas com <i>M. javanica</i> apresentando os sintomas de galhas.....	7
Figura 2. Esquema representativo das etapas envolvidas na extração de ovos de <i>Meloidogyne</i> spp.....	8
Figura 3. Análise de Regressão Cúbica de determinação das concentrações letais.	14
Figura 4. Regressão Linear para avaliação da percentagem de inibição de ovos de <i>M. javanica</i>	14
Figura 8. Correlação entre as características agronômicas avaliadas e nematológicas sob aplicação do biofertilizante Agrobio.	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Análise química do solo utilizado para implantação do experimento.....	8
Quadro 2. Índice de avaliação e sua descrição de fitotoxidez de acordo com EWRC (1964).....	10

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise granulométrica e classificação textural do solo utilizado no experimento...	9
Tabela 2. Disposição dos tratamentos.	11
Tabela 3. Avaliação da fitotoxidez em sementes de tomate cv ‘Santa Clara’	13
Tabela 4. Efeito das diferentes concentrações do biofertilizante Agrobio na mortalidade de <i>M. javanica</i>	13
Tabela 5. Avaliação dos parâmetros IMO (índice de massa de ovos), PR (peso de raiz), Número de ovos e FR (Fator de Reprodução) em relação ao parasitismo de <i>M. javanica</i> na cultura do tomate cv Santa Clara em diferentes níveis de inóculo e esquemas de aplicação do biofertilizante Agrobio.....	15
Tabela 6. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio no índice de galhas do tomate cv. Santa Clara.....	16
Tabela 7. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na altura do tomate cv Santa Clara.	16
Tabela 8. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio no diâmetro do tomate cv Santa Clara.	17
Tabela 9. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio no número de folhas do tomate cv Santa Clara.....	17
Tabela 10. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa fresca total do tomate cv Santa Clara.	18
Tabela 11. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa seca da haste do tomate cv Santa Clara.....	18
Tabela 12. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa seca da folha do tomate cv Santa Clara.....	19
Tabela 13. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa seca total do tomate cv Santa Clara.....	19

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Nematoides Parasitas de Plantas.....	3
2.2 Biofertilizantes.....	4
2.3 Agrobio	5
2.4 A Cultura do Tomateiro.....	6
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 Caracterização da Área Experimental.....	7
3.2 Obtenção e Preparo dos Inóculos.....	7
3.3 Diluições do Biofertilizante Agrobio.....	8
3.4 Características do Solo Utilizado.....	8
3.5 Avaliação da Fitotoxidez em Sementes de Tomateiro in Vitro.....	9
3.6 Avaliação da Fitotoxidez em Mudanças de Tomateiro cv. Santa Clara.....	9
3.7 Efeito <i>in vitro</i> do Biofertilizante Agrobio Sobre a Mortalidade de <i>M. javanica</i>	10
3.8 Efeito in vitro do Biofertilizante Agrobio Sobre a Eclosão de <i>M. javanica</i>	10
3.9 Efeito do Biofertilizante Agrobio Sobre o Parasitismo de <i>M. javanica</i>	11
3.9.1 Variáveis-resposta relacionadas ao parasitismo de <i>M. javanica</i>	11
3.9.2 Características agronômicas.....	12
3.10 Análises Estatísticas.....	12
4 RESULTADOS	13
4.1 Efeito Fitotóxico do Biofertilizante em Sementes e Mudanças de Tomate	13
4.2 Mortalidade de <i>Meloidogyne javanica</i>	13
4.3 Inibição da Eclosão de Ovos de <i>M. javanica</i>	14
4.4 Ação Parasitária do Nematóide no Tomateiro	15
4.5 Efeito do Inóculo e Número de Aplicações Sobre as Características Morfológicas do Tomateiro.....	16
4.5.1 Altura do tomateiro	16
4.5.2 Diâmetro do tomateiro	17
4.5.4 Produção de biomassa do tomateiro.....	18
4.6 Correlação	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÕES	24
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1 INTRODUÇÃO

A agricultura é uma das atividades produtivas mais importantes, mas sua prática requer cuidados especiais, pois a produção de alimentos está diretamente ligada à qualidade ambiental. Os atuais métodos de cultivo de plantas de lavouras que visam atingir o máximo potencial de produção agrícola requerem a aplicação de pacotes tecnológicos constituídos basicamente de fertilizantes e agrotóxicos, o que, por consequência, causa problemas à saúde humana e um desequilíbrio nos agroecossistemas, especialmente nas comunidades que habitam o solo, como os microrganismos (GARCIA et al., 2015). Nas diferentes formas de interações entre as plantas e os microrganismos, o estabelecimento da associação planta-microrganismo no sistema radicular é fundamental para a resposta quimiostática do endófito aos exsudatos radiculares (GARCIA et al., 2015).

Entre as doenças que afetam a produtividade na agricultura, destacam-se as radiculares e vasculares. Essas doenças, apesar da grande importância no rendimento da alimentação mundial, têm recebido pouca atenção quando comparado às doenças foliares, principalmente quando os sintomas são confinados às raízes. Dentre os organismos causadores de doenças radiculares destacam-se os fungos, as bactérias e os nematoides, denominados generalizadamente como patógenos radiculares ou fitopatógenos habitantes do solo (BELLÉ; FONTANA, 2018).

Os fungos constituem o maior grupo de patógenos radiculares, ocorrendo em todos os tipos de sistemas agrícolas e causando doenças nas principais espécies cultivadas, com uma variada gama de sintomas. Sua reprodução é realizada, principalmente, por meio da produção de esporos por ciclos sexuais ou assexuais (TORTORA et al., 2017).

Muitos fungos por apresentarem capacidade de competição saprofítica e por viverem no solo em meio a resíduos de plantas incorporadas ao solo conseguem manter-se em grandes densidades populacionais mesmo durante longos períodos de rotação de culturas (WHEELER; RUSH, 2001).

Outros fungos que vivem nesse habitat apresentam estruturas miceliais, esclerócios, clamidósporos, que conferem características de sobrevivência às condições ambientais adversas e permanecem viáveis quando as plantas hospedeiras não estão presentes. Essas estruturas podem estar associadas com resíduos de plantas, mas frequentemente encontram-se livres no solo. (WHEELER; RUSH, 2001). Esse conjunto de características é uma das razões pela qual fungos fitopatogênicos que habitam no solo, quando inseridos em uma área de plantio, são difíceis de serem eliminados (WHEELER; RUSH, 2001).

As bactérias são os microrganismos presentes em maior quantidade no solo e podem estar invariavelmente associadas a doenças radiculares. Esses microrganismos que causam doenças radiculares, em sua maioria, sobrevivem em restos culturais, mas em alguns casos são capazes de sobreviver livres no solo (MICHEREFF et al., 2005).

Essas fitobactérias penetram por ferimentos causados por nematoides, insetos, implementos agrícolas ou rachaduras naturais na superfície da raiz. Entre os principais sintomas causados pelas bactérias fitopatogênicas estão as podridões moles, murchas vasculares, proliferação radicular e crescimento celular anormal. Apesar de poucos gêneros bacterianos estarem associados às doenças radiculares, muitos desses gêneros possuem uma ampla gama de hospedeiros. Entre os maiores responsáveis estão as espécies dos gêneros *Agrobacterium*, *Pectobacterium* e *Ralstonia* (MICHEREFF et al., 2005).

Os nematoides fitopatogênicos são parasitas que caracteristicamente se alimentam de raízes, embora algumas espécies sejam capazes de migrar e parasitar órgãos aéreos das plantas e causar galhas ou lesões nesses tecidos. Apresentam em sua constituição um estilete, que

facilita a penetração e a extração de nutrientes das plantas. Alguns nematoides são endoparasitas, pois penetram completamente nas raízes da planta, enquanto outros são ectoparasitas e permanecem na superfície da raiz (MICHEREFF et al., 2005).

Dentre os endoparasitas, alguns são migradores, movimentando-se dentro das raízes e outras partes da planta, enquanto outros são sedentários. Os principais sintomas causados pelos nematoides nas plantas são a necrose radicular, galhas radiculares, ramificação anormal das raízes, murcha e clorose. Algumas espécies de nematoides sobrevivem como ovos, enquanto outras sobrevivem no solo e nos restos radiculares em diferentes estádios. Para a maioria das espécies parasitas de plantas, o processo de eclosão dos juvenis pode ocorrer desde que as condições de temperatura e disponibilidade de água estejam favoráveis. Contudo, algumas espécies, como os nematoides de cistos, requerem estímulos, tais como exsudatos de uma planta hospedeira, para que ocorra a eclosão. Os juvenis, após a eclosão, movem-se para uma planta e iniciam a alimentação (MICHEREFF et al., 2005).

Embora os nematoides sejam importantes patógenos primários, o seu parasitismo pode predispor as plantas a infecções causadas por outras pragas como fungos ou bactérias. Isso ocorre tanto pela abertura de portas de entrada, quanto pelas alterações fisiológicas que esses causam nas plantas hospedeiras (MICHEREFF et al., 2005).

Em ecossistemas agrícolas, a perda da vegetação natural para a introdução sequencial de espécies vegetais de alta produtividade, é responsável por mudanças significativas na estrutura da comunidade microbiana do solo. Acredita-se que a redução da diversidade microbiana dos solos esteja acompanhada da redução da diversidade de plantas cultivadas e dos insumos utilizados, prejudicando importantes funções ecológicas (MASSENSINI et al., 2015). A partir deste desequilíbrio, surgem populações frequentes de alguns microrganismos, aumentando sua densidade populacional e tornando-se patogênico às culturas de interesse (BELLÉ; FONTANA, 2018).

O solo constitui um dos mais importantes recursos para produção de alimentos. Para que o potencial produtivo de solo seja preservado, faz-se necessário a adoção de práticas de manejo que permitam menor incidência de doenças, e se elas incidirem, que as medidas de controle sejam eficientes (BELLÉ; FONTANA, 2018).

Desta forma, estudos que visem buscar medidas alternativas para controle de nematoides, tornam-se necessários para minimizar os impactos ambientais causados pelo uso do método químico de forma exagerada. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar se o biofertilizante Agrobio atua no controle de fitonematoides quando aplicado no solo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nematoides Parasitas de Plantas

Fitonematoides são considerados vermes microscópicos que habitam o solo e atacam as plantas (geralmente as raízes ou outros órgãos subterrâneos), causando sérios danos às culturas agrícolas e acarretando prejuízos econômicos ao produtor rural. Esses vermes são responsáveis por perdas econômicas expressivas na agricultura mundial (SUN et al., 2014).

Entre os grupos estudados de maior impacto econômico estão os endoparasitas sedentários, como *Heterodera* spp., *Globodera* spp. e *Meloidogyne* spp., endoparasitas migradores, como *Pratylenchus* spp., e ectoparasitas migradores, como *Helicotylenchus* spp. (ROBINSON et al., 1997; DAVIS et al., 2004; GANJI et al., 2013; JONES; FOSU-NYARKO, 2014; VIEIRA et al., 2015; LEAL-BERTIOLI et al., 2016). O ataque de nematoides tem sido relatado em muitas espécies de plantas cultivadas, especialmente culturas como a soja, tomate, milho e o feijoeiro (DIAS et al., 2010; CHIAMOLERA et al., 2012; GARDIANO et al., 2012; MACHADO et al., 2012).

Os nematoides conhecidos como formadores de galhas radiculares, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp., estão entre os grupos de maior importância econômica, formando vários complexos de doenças, sendo considerados de difícil controle e conseqüentemente causando queda na produção e na qualidade de várias culturas economicamente importantes (MÔNACO et al., 2009; STROZE, 2013). São parasitas obrigatórios e parasitam milhares de diferentes espécies de plantas, incluindo monocotiledôneas, dicotiledôneas e plantas herbáceas e lenhosas (NICKLE, 1991). Os efeitos dessas pragas são ainda mais agravados por conta do efeito em sua ampla gama de hospedeiros e sua extensa distribuição geográfica. Desde que difíceis de controlar, é necessário adotar práticas voltadas à gestão integrada (FERRAZ et al., 2010).

Esses endoparasitas estão entre os cinco principais patógenos de plantas e o primeiro entre os dez gêneros mais importantes de nematoides parasitas de plantas em todo o mundo (MUKHTAR et al., 2013). A posição taxonômica do gênero *Meloidogyne* atualmente está categorizada em: Filo: Nematoda Potts, 1932, Classe: Chromadorea Inglis, 1983, Subclasse: Chromadoria Pearse, 1942, Ordem: Rhabditida Chitwood, 1933, Subordem: Tylenchina Thorne, 1949, Infraordem: Tylenchomorpha De Ley & Blaxter, 2002, Superfamília: Tylenchoidea Örley, 1880 Família: Meloidogynidae Skarbilovich, 1959, Gênero: *Meloidogyne* Goeldi, 1887.

Os nematoides formadores de galhas são endoparasitas sedentários e que possuem como característica o dimorfismo sexual. As diferenças na forma do corpo das fêmeas e machos são estabelecidas durante o desenvolvimento pós-embrionário. As espécies de *Meloidogyne* apresentam o mesmo ciclo de vida, porém a diferenciação sexual, a reprodução e a fecundidade dos mesmos são afetadas por fatores ambientais e pela espécie vegetal à qual estão associados (MOURA, 1996; GOMES, 2006; STROZE, 2013).

O seu ciclo de vida ocorre todo no interior da raiz da planta. Esse envolve quatro estádios juvenis (J1, J2, J3 e J4) até chegar à fase adulta (macho e fêmea). Na fase juvenil, após eclosão, os juvenis de segundo estágio (J2) movimentam-se até a raiz e penetram na região de alongamento. Esses J2 locomovem-se intercelularmente, direcionando-se até o cilindro central onde estabelecem um sítio de alimentação, tornando-se, posteriormente, sedentários. Após o estabelecimento do nematoide na raiz, este injeta substâncias produzidas pelas glândulas esofagianas através de seu estilete, e, em reação a esse evento, ocorrem alterações ultra estruturais nas células no entorno da região anterior do corpo do nematoide culminando nas formações das células de alimentação, as chamadas Células-Gigantes. A partir dessas células especializadas, esses nematoides conseguem drenar água e nutrientes de seu hospedeiro para se

desenvolver e se reproduzir. Outra alteração que pode ocorrer nas raízes parasitadas é a formação de um engrossamento da raiz denominado de ‘galha’, a qual pode ser visível a partir de 48 h após a penetração dos juvenis nas raízes (GOMES; SOUZA, 2003; PINHEIRO; LOPES, 2011). O ciclo de *Meloidogyne* pode variar de 21 a 45 dias dependendo das condições climáticas e da espécie envolvida (GOMES; SOUZA, 2003; WHITEHEAD, 1998; MAI et al., 1980).

Meloidogyne spp. foram, por muitas décadas, controlados pelo uso de nematicidas. No entanto, a proibição de produtos químicos com uma ampla ação em organismos não-alvo, ou a implementação de novas diretivas e regulamentos para reduzir aplicações químicas, têm limitado o uso do método químico para controle de nematoides (HUANG et al., 2018; VILLAVARDE et al., 2016). Portanto, são necessárias estratégias alternativas para reduzir as populações de *Meloidogyne* spp. com uma solução durável e uso reduzido de pesticida

O uso de cultivares resistentes e nematicidas são as principais estratégias de redução das perdas de rendimento causadas por esses nematoides. A aplicação de nematicidas, embora muito eficaz, não é atraente para a agricultura devido aos seus altos custos e elevada toxicidade ao ser humano e animais. Os produtos mais utilizados para fins de controle pertencem ao grupo dos carbamatos, um dos formulados mais tóxicos já registrados no país (MACHADO et al., 2012).

Já a utilização de cultivares resistentes aos nematoides é ambientalmente benigna, segura e economicamente viável para controlar nematoides das galhas (MUKHTAR et al., 2013). Cultivares resistentes podem também ser empregues como um componente do manejo integrado de fitonematoides, juntamente com outras estratégias de controle, como alterações do solo orgânico, biocontrole, solarização, tratamento térmico e cultura de rotação com os não-hospedeiros para controlar nematoides das galhas (HUSSAIN et al., 2011; KAYANI et al., 2012; MUKHTAR et al., 2013).

2.2 Biofertilizantes

Biofertilizantes são compostos bioativos, resultante da fermentação de compostos orgânicos que contêm células vivas ou latentes de microrganismos (bactérias, leveduras, algas e fungos filamentosos) e seus metabólitos, além de quelatos organo-minerais (ALVES et al., 2001). Dessa forma, podemos definir que os biofertilizantes não contêm apenas microrganismos, mas também nutrientes primários ou reguladores do crescimento das plantas (BHARDWAJ et al., 2014; SHEN et al., 2015). Geralmente, eles são formados pela fermentação em estado sólido de resíduos agroindustriais, demonstrando promover a biodegradação de matéria orgânica ou acúmulo de antibióticos metabólitos. Isso promove o aumento na eficácia do biocontrole de várias doenças de plantas, incluindo aquelas causadas por nematoides das galhas (JIANG et al., 2018).

Na agricultura, os adubos orgânicos são usados nas formas sólidas e/ou líquidas. O esterco bovino é a fonte mais utilizada, especialmente em solos pobres em matéria orgânica (FILGUEIRA, 2008). Porém, os altos custos na produção de alimentos no modelo convencional e a conservação dos recursos do meio ambiente vêm despertando no homem o interesse em buscar alternativas de manejo cultural e edáfico dentro de uma agricultura ecológica, priorizando a qualidade do produto, amenizando o nível de contaminação do solo, água, planta, homem e todos os organismos vivos componentes dos agroecossistemas (ALVES et al., 2001; DAROLT, 2002; SOUZA; REZENDE, 2006).

Muitos produtos alternativos têm sido lançados e testados por produtores orgânicos e convencionais em fase de transição para agricultura orgânica. Uma das alternativas disponíveis para o manejo e nutrição de culturas é o uso de biofertilizantes, usados por pequenos e médios agricultores (BETTIOL et al., 1997).

O enriquecimento do biofertilizante pode ser feito com a adição de macro e micronutrientes, que ativam e enriquecem a fermentação. O uso de farinha de rocha tem sido uma vantagem por ter baixíssimo custo e conter determinados elementos que enriquecem o biofertilizante, tais com os sais minerais. A finalidade do leite e do açúcar (melaço) é para acelerar o processo de fermentação e para reavivar o biofertilizante antes de diluí-lo para aplicação, além de facilitar sua penetração na parte da planta aspergida. Em outras fontes de biomassa, pode-se fazer uma inoculação com um pouco de esterco fresco e melaço, além de soro de leite, para obter a fermentação desejada (SANTOS; SANTOS, 2008).

2.3 Agrobio

O Agrobio é um biofertilizante que resulta da fermentação aeróbica de substratos orgânicos (esterco de curral fresco, soro de leite e açúcar mascavo) por microrganismos (leveduras, fungos, bactérias etc.), ou seja, assim como nos biofertilizantes em geral, há uma comunidade microbiana composta por fungos unicelulares e filamentosos e bactérias. Para 500 litros deste biofertilizante são utilizados: 200 litros de água; 100 litros de esterco fresco bovino e ureia; 20 litros de leite de vaca ou soro de leite; 3 kg de melaço; 3010 g de bórax ou ácido bórico; 3990 g de cinza de lenha; 5950 g de cloreto de cálcio; 301 g de sulfato ferroso; 420 g de farinha de osso; 420 g de farinha de carne; 1001 g de termofosfato magnésiano; 10,5 kg de melaço; 210 g de molibdato de sódio; 210 g de sulfato de cobalto; 301 g de sulfato de cobre; 602 g de sulfato de manganês; 1001 g de sulfato de magnésio; 399 g de sulfato de zinco; 203 g de torta de mamona; Solução de iodo a 1%. Sua ação pode ser ainda, resultado da presença de antibióticos e da intensa atividade microbiana propiciada pelas aplicações frequentes do produto (DELEITO, 2002; TRATCH; BETTIOL, 1997).

Após mais ou menos 56 dias, e de acordo com as condições ambientais, o produto estabiliza-se e pode ser engarrafado para uso em cultivos (FERNANDES, 2000). Este produto é usado como fertilizante foliar e também para controlar algumas doenças em mudas de hortaliças folhosas, ornamentais e fruteiras em geral (VAIRO DOS SANTOS, 1991; BETTIOL et al., 1997).

Esse produto apresenta como característica uma coloração escura, com pH entre 5 e 6. Como característica química possui aproximadamente 34,69g/litro de matéria orgânica; 0,8% de carbono; 631mg/litro de N; 170mg/litro de P; 1,2g/litro de K; 1,59g/litro de Ca e 480mg/litro de Mg. A análise microbiológica apontou que não há presença de coliformes fecais, bactérias patogênicas e toxinas (FERNANDES et al., 2006).

De acordo com Medeiros e Lopes (2006), o uso de produtos resultantes da fermentação aeróbica de substratos orgânicos na forma líquida, simples ou enriquecida, tem sido um dos processos empregados para o controle das pragas e doenças e na composição mineral das plantas, servindo como estratégia no equilíbrio nutricional e biodinâmico do vegetal.

Em um estudo realizado por Deleito et al. (2005) foi possível observar que o biofertilizante Agrobio proporcionou maior comprimento das hastes, maior peso da matéria seca da parte aérea e maior área foliar.

Além disso, em um estudo realizado por Cruz (2019), onde foram aplicados diferentes tempos o biofertilizante Agrobio em mudas e plantas de beterraba (*Beta vulgaris* L.), foi verificado que a medida que se aumentou o número de aplicações do produto, houve uma diminuição dos sintomas causados por nematoides formadores de galhas. Esse resultado demonstra que os usos de produtos alternativos, assim como o Biofertilizante Agrobio, podem apresentar efeito nematicida sobre a comunidade de *Meloidogyne* spp.

2.4 A Cultura do Tomateiro

De acordo com Alvarenga (2004), a cultura do tomate botanicamente está dentro da classe das Dicotyledoneae, ordem Tubiflorae e família Solanaceae. A família Solanaceae é considerada de grande importância na agricultura, pois são encontradas as mais diversas espécies produtoras de alimentos, plantas medicinais e plantas daninhas, tendo aproximadamente cerca de 96 gêneros e 2300 espécies (MINAMI; MELLO, 2017).

Os tomateiros são de centro de origens da Costa oeste do Norte da América do Sul (Chile, Peru, Sul da Colômbia), sendo domesticado por índios mexicanos e expandindo-se posteriormente pelos europeus pelas demais partes do mundo (NAIKA et al., 2006; PERALTA et al., 2008; OLIVEIRA JÚNIOR, 2012; ALVARENGA, 2013). É uma planta herbácea que quando jovem contém um caule redondo, piloso e macio, transformando-se em fibroso ao passar do seu desenvolvimento. Suas flores são pequenas e de coloração amarelada, com o cálice possuindo até 5 espécies, as pétalas são lanceoladas e largas. Os cachos de flores podem ser não ramificados ou ramificados. Essa planta apresenta hábito hermafrodita, tornando-se assim uma planta autógama (JUNIOR, 2012).

De acordo com Filgueira (2008), essa planta apresenta dois hábitos de crescimento, que são determinantes para a condução dessa cultura. O primeiro é classificado como determinado, onde as cultivares são melhoradas com o objetivo agroindustrial. O seu crescimento vegetativo é menos vigoroso, com hastes uniformes e altura de até um metro. Já o segundo hábito de crescimento é chamado de indeterminado, onde as plantas atingem até 2,5 m de altura, ocorrendo maior dominância apical e com crescimento vegetativo mais contínuo com a finalidade de produção de flores e frutos.

Em relação a sua produção, a FAO em 2016 registrou que cerca de 175 países cultivam essa cultura, totalizando uma produção de mais de 177 milhões de toneladas e uma área cultivada de aproximadamente 4,8 milhões de hectares. Mundialmente, a China apresenta uma área cultivada de mais de um milhão de hectares, contabilizando uma produção anual de mais de 56 milhões de toneladas. (FAOSTAT, 2018). Já o Brasil ficou classificado como o oitavo maior produtor mundial de tomate, com produção de 4,5 milhões de toneladas no ano de 2018 (IBGE, 2019).

No Brasil, a introdução do tomate deve-se a imigrantes europeus no final do século XIX (ALVARENGA, 2009). Segundo dados do IBGE (2019), os estados com maior destaque para produção em nosso país são: São Paulo, com 858,0 mil toneladas (19,8% do total nacional), Minas Gerais (12,6%), Bahia, com 275,8 mil toneladas (6,4%), Santa Catarina (4,3%), Espírito Santo (3,9%), Rio de Janeiro (3,8%), Paraná (3,4%), Ceará (3,0%) e Rio Grande do Sul (2,9%).

As cultivares de tomateiro mais cultivadas e que apresentam destinação para o consumo in natura pertencem a quatro grupos: cereja, salada, italiano e o Santa Cruz. São os mais conhecidos no mercado pelo seu preço e são usados bastante na culinária (EMBRAPA, 2018). Dentre as principais variedades de tomate que se destacam no mercado brasileiro atualmente, pode-se citar a Santa Clara, do grupo Santa Cruz que têm atraído uma grande parcela do setor produtivo por apresentar frutos de maior durabilidade pós-colheita sem que possuam quaisquer dos genes que retardam o processo de maturação e alto potencial produtivo, além de características organolépticas superiores, e esteticamente serem mais uniformes e exibirem coloração vermelha mais intensa (SHIRAHIGE et al., 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da Área Experimental

Todos os experimentos foram conduzidos na Universidade Federal de Viçosa, no estado de Minas Gerais. Os ensaios *in vitro* foram realizados no laboratório de Nematologia. Já os experimentos *in vivo* foram conduzidos em casa de vegetação, ambos pertencentes ao Departamento de Fitopatologia.

3.2 Obtenção e Preparo dos Inóculos

A população de *M. javanica* foi multiplicada e mantida em raízes de tomate cv. ‘Santa Clara’ em casa de vegetação. Para isso, vasos de plástico contendo como substrato solo e areia na proporção 1:1, previamente autoclavados (120 °C/1 hora) foram cultivados com o tomateiro cv. ‘Santa Clara’, para multiplicação do inóculo durante um período de 60 dias. Após esse período, as raízes infectadas foram usadas para a extração dos ovos de *M. javanica*, os quais constituíram o inóculo utilizado nos experimentos (Figura 1).

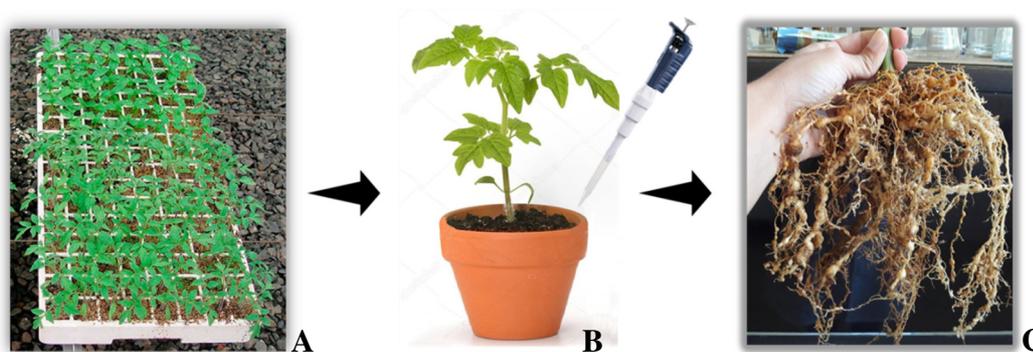


Figura 1. Processo para obtenção de ovos de *Meloidogyne javanica*. A) Preparo das mudas, B) Infestação do substrato com os ovos e C) Raízes infectadas com *M. javanica* apresentando os sintomas de galhas.

A extração dos ovos das raízes foi realizada pela técnica de Hussey e Barker (1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981), na qual as raízes apresentando galhas e massas de ovos externas foram cuidadosamente lavadas em água corrente, cortadas em pequenos fragmentos com aproximadamente 2 cm de comprimento e trituradas no liquidificador com uma velocidade baixa por 20 segundos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 %. A suspensão aquosa foi vertida em duas peneiras granulométricas sobrepostas, sendo a superior com abertura de malha 0,074 mm (200 mesh) e a inferior com abertura de 0,025 mm (500 mesh). Os ovos retidos na última peneira foram lavados em água corrente e, com o auxílio de uma pisseta, recolhidos em um béquer com capacidade de 250 mL. Posteriormente a concentração do inóculo foi ajustada com o auxílio da câmara de Peters sob microscópio de luz (Figura 2).

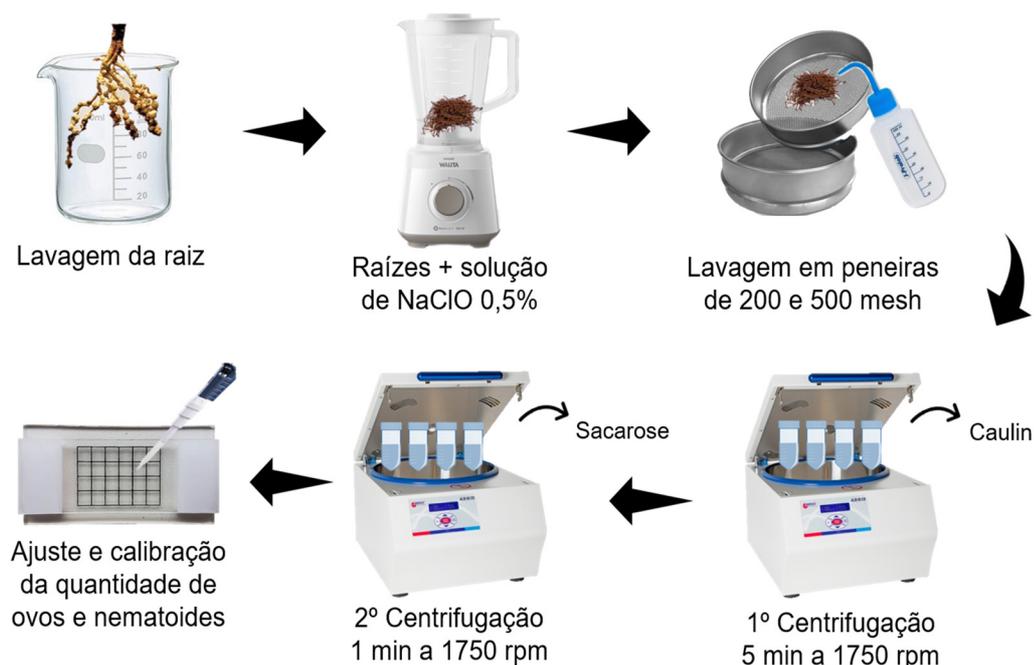


Figura 2. Esquema representativo das etapas envolvidas na extração de ovos de *Meloidogyne* spp.

Para a infestação do solo, a suspensão de inóculo foi depositada em orifícios ao redor das plantas, com uma pipeta, a uma distância de 1,5 cm do caule e 2,5 cm de profundidade. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura entre 28°C e 30°C e irrigação diária.

3.3 Diluições do Biofertilizante Agrobio

Foram determinadas cinco concentrações iniciais para realização dos testes. As doses escolhidas foram: 5% (950 ml de água + 50 mL do biofertilizante Agrobio); 10% (900 ml de água + 100 ml do biofertilizante Agrobio); 15% (850 ml de água + 150 ml do biofertilizante Agrobio); 20% (800 ml de água + 200 ml do biofertilizante Agrobio) e 25% (750 ml de água + 250 ml do biofertilizante Agrobio).

3.4 Características do Solo Utilizado

As características química, granulométricas e classificação textural do solo utilizado no experimento *in vivo* encontram-se no Quadro 1 e Tabela 1 abaixo:

Quadro 1. Análise química do solo utilizado para implantação do experimento.

pH	P	K	Na	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	(t)	T
H ₂ O		mg/dm ³					cmol/dm ³			
5,6	83,2	300	-	3,98	0,24	0,0	1,65	4,99	4,99	6,64
V		MO		Prem	Zn	Fe	Mn	Cu	B	
%		dag/kg		mg/L			mg/dm ³			
75,2		0,81		29,5	1,8	43,2	20,8	0,9	0,14	

Tabela 1. Análise granulométrica e classificação textural do solo utilizado no experimento.

Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)	Classificação textural
22	6	72	Franco-argilo-arenosa

3.5 Avaliação da Fitotoxidez em Sementes de Tomateiro in Vitro

Os bioensaios de germinação foram conduzidos de acordo com o manual de regras de análises de sementes (BRASIL, 2009). Em cada placa Petri foi colocada uma camada dupla de papel filtro de análise qualitativa, e em seguida umedecida com 5 mL de cada concentração do composto. Os tratamentos foram constituídos por diferentes concentrações do biofertilizante (5%, 10%, 15%, 20%, 25%) e um tratamento composto por água como controle. Logo após, foram colocadas em cada placa 12 sementes do cultivar de tomateiro cv. Santa Clara. As sementes foram acondicionadas em B.O.D a temperatura de 25 a 28 ± 1 °C e com fotoperíodo claro/escuro de 8/16 horas durante 15 dias. O experimento foi constituído por 6 tratamentos e 6 repetições, totalizando 432 sementes utilizadas, sendo 72 por tratamento.

Após o término do experimento (15 dias), foram quantificados o número de sementes germinadas (NSG) e o comprimento das raízes (LR). Esses parâmetros foram usados no cálculo do índice de germinação (GI – *Germination Index*). Para se calcular o GI determinou-se a percentagem relativa de germinação de sementes (RSG – *Relative Seed Germination*) e a percentagem relativa do comprimento das raízes (RRG – *Relative Root Growth*). O cálculo da percentagem relativa de germinação (RSG) foi efetuado pela equação:

$$RSG(\%) = \frac{\bar{N}_{SGT}}{N_{SGB}} \times 100 \quad (1)$$

Onde \bar{N}_{SGT} é a média aritmética do número de sementes germinadas em cada tratamento, e N_{SGB} é a média aritmética do controle. Já a percentagem relativa do comprimento das raízes, RRG, é dada pelo comprimento médio das raízes e o comprimento médio das raízes do controle L_{RT} definida pela equação abaixo:

$$RRG(\%) = \frac{LR.T}{LRB} \times 100 \quad (2)$$

Por fim, foi calculado o índice de germinação (GI), de acordo com Zucconi et al. (1981), utilizando parâmetros RSG e RRG conforme a equação:

$$GI(\%) = \frac{RSG(\%) * RRG(\%)}{100} \quad (3)$$

3.6 Avaliação da Fitotoxidez em Mudanças de Tomateiro cv. Santa Clara

Foram utilizadas mudas de tomateiro com aproximadamente 14 dias após a germinação. Após esse período, as plantas foram transferidas para vasos de plástico com capacidade de 200 mL contendo solo de barranco e substrato comercial (1:1). O experimento foi composto por 6 tratamentos com 6 repetições em delineamento em blocos. Os tratamentos foram constituídos por diferentes concentrações do biofertilizante (0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%). Alíquotas de 5 mL de cada tratamento foram aplicadas no solo em seis períodos: 5 dias após a semeadura;

10 dias após semeadura; 14 dias antes do transplante; 7 dias antes do transplante; no dia do transplante e 7 dias após o transplante. Em seguida, as mudas foram mantidas em casa de vegetação por um período de 14 dias.

As avaliações foram realizadas de acordo com a tabela de fitotoxicidade proposta por EWRC (1964), com avaliações periódicas duas vezes ao dia ao longo de 14 dias.

Quadro 2. Índice de avaliação e sua descrição de fitotoxicidade de acordo com EWRC (1964).

Índice	Descrição da fitointoxicação
1	Sem dano
2	Pequenas alterações (descoloração, deformação) visíveis em algumas plantas
3	Pequenas alterações visíveis em muitas plantas (clorose e encarquilhamento)
4	Forte descoloração ou razoável deformação, sem ocorrer necrose
5	Necrose em folhas com deformação nas folhas e brotos
6	Redução no porte das plantas, encarquilhamento e necrose das folhas
7	Mais de 80% das folhas destruídas
8	Danos extremamente graves
9	Morte da planta

3.7 Efeito *in vitro* do Biofertilizante Agrobio Sobre a Mortalidade de *M. javanica*

O efeito nematicida do biofertilizante Agrobio foi avaliado em placas contendo 96 poços, onde cada poço representou uma parcela experimental. Cada parcela recebeu 100 µL de suspensão aquosa contendo aproximadamente 50 juvenis de segundo estágio (J2), mais 100 µL de cada diluição do biofertilizante, representada pelas diferentes concentrações de cada tratamento (0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%). Em seguida, as placas foram mantidas em B.O.D a 25 °C no escuro. A mortalidade foi avaliada em três tempos (24, 48 e 72 h), utilizando uma placa para cada dia de avaliação. Para verificação da mortalidade dos nematoides, no momento da leitura foram adicionados em cada parcela 15 µL de uma solução aquosa de NaOH (1 mol L⁻¹, pH 10). Logo após isso, com o auxílio de um microscópio de luz, os nematoides que exibiram corpo retorcido foram considerados vivos, e os que apresentaram corpo reto e imóveis foram classificados como mortos (CHEN; DICKSON, 2000).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições para cada tempo avaliado. Logo após isso, foram feitas análises de regressão polinomial cúbica para determinação da concentração letal de 50% que mataram os J2 após 72 horas.

3.8 Efeito *in vitro* do Biofertilizante Agrobio Sobre a Eclosão de *M. javanica*

Para avaliação da inibição da eclosão dos J2 de *M. javanica*, foram montados ensaios em placas de 96 poços. O experimento foi constituído de 6 tratamentos, representados por diferentes concentrações do biofertilizante (H₂O, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%) e 10 repetições, seguindo o delineamento inteiramente casualizado. Cada poço da placa representou uma parcela. Em cada parcela foram adicionados uma solução aquosa contendo aproximadamente 50 ovos extraídos conforme descrito no item 3.2 e em seguida 100 µL de cada tratamento. As placas foram acondicionadas em B.O.D a 25 °C por 10 dias, com leituras a cada 24 horas em microscópio de luz invertida para verificação do número de J2 eclodidos.

3.9 Efeito do Biofertilizante Agrobio Sobre o Parasitismo de *M. javanica*

Para se avaliar o efeito do Agrobio sobre o parasitismo de *M. javanica*, mudas de tomateiros foram cultivadas em vasos de plástico de 2 L contendo solo franco-argilo-arenoso e então, o solo foi infestado com ovos desse nematoide. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com esquema fatorial 3x7 com 6 repetições, sendo utilizado três níveis do inóculo de *M. javanica* (500, 1000 e 2000 ovos por planta) e sete esquemas de aplicações (7DAT, 1DT, 15 DAE, 30 DAE, 45 DAE, 60 DAE e controle sem aplicação) (Tabela 2).

Após a calibração da quantidade de inóculo de *M. javanica* (500, 1000 e 2000 ovos por planta), foi feita a infestação no solo, onde foram feitos 2 orifícios de 5 cm de profundidade e inoculado os ovos do nematoide. Logo em seguida, no mesmo orifício que foram feitas as infestações com ovos, foram injetados 5 mL do biofertilizante Agrobio em cada vaso ao redor do colo da planta com o auxílio de um micropipetador. Nesse experimento utilizou-se o biofertilizante Agrobio na concentração de 25%. Essa concentração foi determinada com base nos resultados obtidos nos testes *in vitro*.

Tabela 2. Disposição dos tratamentos.

Nível de Inóculo	Épocas de Aplicação do Produto	Total de Aplicações
500	SEM APLICAÇÃO	0
500	7 DAT	1
500	7 DAT + 1 DIA	2
500	7 DAT + 1 DIA + 15DDT	3
500	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT	4
500	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT + 45DDT	5
500	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT + 45DDT + 60DDT	6
1000	SEM APLICAÇÃO	0
1000	7 DAT	1
1000	7 DAT + 1 DIA	2
1000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT	3
1000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT	4
1000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT + 45DDT	5
1000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT + 45DDT + 60DDT	6
2000	SEM APLICAÇÃO	0
2000	7 DAT	1
2000	7 DAT + 1 DIA	2
2000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT	3
2000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT	4
2000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT + 45DDT	5
2000	7 DAT + 1 DIA + 15DDT + 30DDT + 45DDT + 60DDT	6

DAT: Dias antes do transplantio; DDT: Dias depois do transplantio; 1 DIA: No dia do transplantio.

O efeito do produto sobre o parasitismo de *M. javanica* em tomateiro foi determinado com base nas seguintes variáveis-resposta: índice de massa de ovos (IMO), índice de galhas (IG), número de ovos por grama de raiz e fator de reprodução (FR). Já para se avaliar se houve efeito do produto sobre o desenvolvimento da planta, mensurou-se algumas características agrônomicas da cultura (item 3.9.2).

3.9.1 Variáveis-resposta relacionadas ao parasitismo de *M. javanica*

Os sistemas radiculares das plantas de tomateiro foram coletados, lavados em água corrente e submetidos a coloração em solução de Floxina B (0,5 g/1L de água) durante 15

minutos (TAYLOR; SASSER, 1978). Em seguida, realizou-se a contagem do número de massa de ovos de *M. javanica* sob microscópio estereoscópio (DICKON; STRUBLE, 1965). O IMO nas raízes foi determinado com base em uma escala de notas de 1 a 5, sendo 1= raízes sem massa de ovos; 2= raízes com 1 a 5 massas de ovos; 3= raízes com 6 a 15 massas de ovos; 4= raízes com 16 a 30 massas de ovos; e 5= raízes com mais de 30 massas de ovos (HUANG et al., 1986). Após, seguiu-se a contagem do número de galhas presente em cada sistema radicular. Esses dados foram usados para se determinar o índice de galhas, que se baseia em uma escala de notas de 1 a 5, sendo 1= raízes sem galhas; 2= raízes com até 10 galhas pequenas; 3= raízes com até 50 galhas pequenas; 4= raízes com mais de 50 galhas pequenas e até 10 galhas grandes; e 5= raízes com mais de 50 galhas pequenas e mais de 10 galhas grandes. Galhas com mais de 3 mm foram consideradas grandes (CHARCHAR et al., 2003).

Para a determinação do número de ovos por sistema radicular, as raízes foram lavadas, secadas à temperatura ambiente e pesadas e os ovos extraídos conforme descrito no item 3.2 e ilustrado na Figura 2. Essa variável foi expressa como número médio de ovos por grama de raiz. Em adição, realizou-se a contagem dos J2 extraídos juntamente com os ovos, sendo esses valores somados ao número de ovos para determinação da população final (P_f) de *M. javanica* presente em cada unidade experimental. Esses dados foram usados para se calcular o Fator de Reprodução (FR) empregando-se a fórmula $FR = P_f / P_i$, sendo P_i a população inicial (OOSTENBRINK, 1966). As populações iniciais usadas nesse cálculo consistiram nas diferentes concentrações de inóculo usadas no experimento (500, 1500 e 2000 ovos por vaso).

3.9.2 Características agronômicas

Foram avaliados: o número de folhas (NF), diâmetro da haste (DC), altura das plantas (ALT), matéria seca das folhas (MSF), matéria seca da haste (MSH), matéria seca total (MST) da parte aérea das plantas e análise foliar de micronutrientes.

As folhas e as hastes de cada planta foram cortadas em pedaços de 1,5 cm de comprimento, e posteriormente acondicionados separadamente em sacos de papel, e secos em estufa de circulação forçada de ar, a uma temperatura de 70 °C por 72 horas. Posteriormente, foi feita a pesagem em balança de precisão determinando-se o peso da MSF e MSC de cada planta. Por somatório, foi obtido o peso da MST da parte aérea.

3.10 Análises Estatísticas

As análises de regressão para avaliação da mortalidade e eclosão foram feitas no SigmaPlot 14.5. Os dados foram avaliados no software SISVAR, onde foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para os dados que não atenderam as premissas ANOVA as médias foram comparadas com o teste não paramétrico de Friedman a 5% de probabilidade. A análise de correlação foi avaliada no software Rstudio 4.0.2.

4 RESULTADOS

4.1 Efeito Fitotóxico do Biofertilizante em Sementes e Mudanças de Tomate

Todos os parâmetros avaliados para fitotoxidez em sementes de tomate cv 'Santa Clara' apresentaram melhores resultados no tratamento controle, sendo este classificado como um tratamento que potencializa a germinação e o crescimento da raiz (Tabela 3). Além disso, pode-se constatar que à medida que aumenta a concentração do biofertilizante Agrobio, há uma redução na porcentagem de sementes germinadas e no comprimento das raízes. Sendo assim, o Agrobio foi classificado como fitotóxico.

Tabela 3. Avaliação da fitotoxidez em sementes de tomate cv 'Santa Clara'.

Tratamento	RSG(%)	RRG(%)	IG(%)	Classificação
H ₂ O	100	100	100	Potencializa a germinação e raiz
5%	95	59	57	Fitotóxico
10%	81	25	20	Fitotóxico
15%	85	13	11	Fitotóxico
20%	54	10	5	Fitotóxico
25%	33	6	2	Fitotóxico

RSG: Porcentagem de sementes germinadas; RRG: Porcentagem do comprimento da raiz; IG: Índice de germinação.

Em relação às mudas de tomate, diferente do que ocorreu nas sementes, o biofertilizante não apresentou efeito fitotóxico em nenhuma das concentrações testadas.

4.2 Mortalidade de *Meloidogyne javanica*

Não houve diferença significativa durante a avaliação em 24 e 48 horas em relação ao aumento da concentração do biofertilizante. O biofertilizante Agrobio apresentou efeito nematicida apenas a partir de 72 horas (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito das diferentes concentrações do biofertilizante Agrobio na mortalidade de *M. javanica*.

Tratamento	24 horas	48 horas	72 horas
H ₂ O	2,93aB	12,27aA	2,95bB
5%	3,24aC	21,02aB	61,59aA
10%	4,99aC	19,34aB	59,50aA
15%	3,77aC	19,52aB	64,47aA
20%	5,26aC	19,13aB	68,54aA
25%	5,93aC	18,81aB	74,59aA

*Letras minúsculas comparam as diferentes concentrações dentro de um mesmo inóculo. Letras maiúsculas comparam o efeito da concentração ao longo do tempo.

À medida que a concentração do biofertilizante Agrobio aumenta, há uma maior taxa de mortalidade dos nematoides juvenis de segundo estágio (Figura 3). O tratamento controle apresentou uma taxa de mortalidade de aproximadamente 3%, enquanto os tratamentos contendo 5%, 10%, 15%, 20% e 25% do produto apresentaram uma variação na taxa de mortalidade de 61%, 59%, 64%, 68% e 74%, respectivamente.

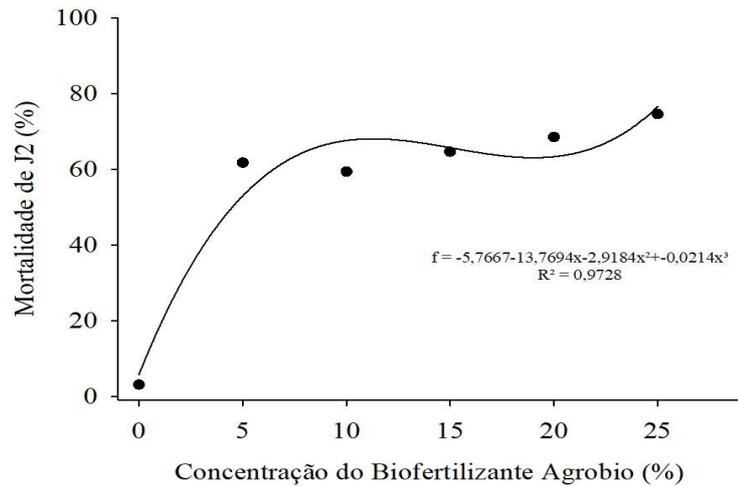


Figura 3. Análise de Regressão Cúbica de determinação das concentrações letais.

Quando calculada a concentração letal 50 (CL50), foi possível observar que o produto em concentração de aproximadamente 5%, foi eficaz na mortalidade de mais de 50% da população de J2 de *M. javanica* inoculadas. Já em relação a CL90 e CL100, pode-se inferir que essas concentrações letais não ocorreram, uma vez que em nenhuma das concentrações testadas do biofertilizante, houve morte superior a 74% dos J2 inoculados.

4.3 Inibição da Eclosão de Ovos de *M. javanica*

O biofertilizante Agrobio apresentou um efeito significativo na redução de ovos eclodidos de nematoides (Figura 4). À medida que as concentrações do biofertilizante aumentaram, houve uma redução na eclosão dos ovos de *M. javanica*. Apenas o tratamento controle apresentou mais de 50% dos ovos inoculados eclodidos (73%), enquanto os tratamentos que continham o biofertilizante mostraram que mais de 40% dos ovos de *M. javanica* sofreram inibição no processo de eclosão. Essa inibição foi de 44%, 47%, 64% e 84% para as concentrações de 5%, 10%, 15%, 20 % de Agrobio, respectivamente. Já o tratamento composto pela concentração de 25% do produto foi capaz de inibir a eclosão de mais de 90% dos ovos inoculados.

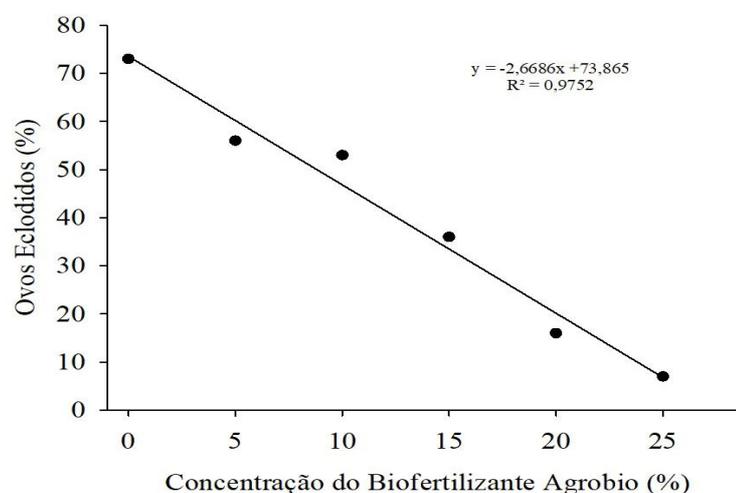


Figura 4. Regressão Linear para avaliação da percentagem de inibição de ovos de *M. javanica*.

4.4 Ação Parasitária do Nematóide no Tomateiro

O índice de massa de ovos, índice de galhas, peso de raiz, número de ovos e fator de reprodução não apresentaram diferença estatística significativa em relação os três níveis de inóculo (500, 1000 e 2000 ovos) e os diferentes números de aplicação do biofertilizante Agrobio (0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6) (Tabela 5).

Após análise via escala de Huang et al. (1986), foi atribuída a nota 5 para o índice de massa de ovos, uma vez que estas apresentaram mais de 30 massas de ovos. Esse índice não variou em relação ao nível de inóculo (500, 1000 e 2000 ovos) e nem mesmo em função da quantidade de aplicações do produto (0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6), permanecendo nota 5 em todos os tratamentos.

As raízes apresentaram pesos que variaram entre 30,7 e 42 gramas por planta. No tratamento que continha 500 ovos de *M. javanica* inoculados, foi possível observar uma variação no peso fresco da raiz entre 32,6 e 39,9 gramas. No tratamento contendo 1000 ovos houve uma variação de 30,7 e 42 gramas. Já no tratamento composto por 2000 ovos foram observados pesos variando entre 33,2 e 38,5 gramas. O menor peso das raízes foi observado no tratamento controle.

Em relação ao número de ovos por grama de raiz, nos tratamentos compostos por 500 ovos do inóculo, foi verificado uma variação de 362 a 669,2 ovos por grama de raiz. Em relação aos tratamentos com 1000 ovos, foi observado valores variando entre 551,7 e 925,1 ovos por grama de raiz. Já nos tratamentos com 2000 ovos foi verificada uma variação entre 453,3 a 1272,1 ovos por grama de raiz.

Tabela 5. Avaliação dos parâmetros IMO (índice de massa de ovos), PR (peso de raiz), Número de ovos e FR (Fator de Reprodução) em relação ao parasitismo de *M. javanica* na cultura do tomate cv Santa Clara em diferentes níveis de inóculo e esquemas de aplicação do biofertilizante Agrobio.

Inóculo (ovos)	Nº Aplicações	IMO	PR	Nº Ovos (g/raiz)	FR
500	0	5	32,6	589,7	35,6
	1 ^a	5	36,9	362,0	28,6
	2 ^a	5	38,9	523,2	38,5
	3 ^a	5	39,9	550,5	40,1
	4 ^a	5	33,9	669,2	46,8
	5 ^a	5	37,5	489,8	39,2
	6 ^a	5	35,2	597,7	42,5
1000	0	5	30,7	786,1	21,3
	1 ^a	5	38,1	682,7	25,4
	2 ^a	5	38,4	551,7	20,8
	3 ^a	5	35,8	925,1	34,6
	4 ^a	5	32,8	837,2	29,7
	5 ^a	5	42,0	633,6	24,1
	6 ^a	5	36,6	851,7	31,3
2000	0	5	34,8	694,2	12,1
	1 ^a	5	35,9	1127,4	17,9
	2 ^a	5	39,4	453,3	8,8
	3 ^a	5	33,2	485,5	8,9
	4 ^a	5	34,9	1272,1	13,7
	5 ^a	5	38,5	776,4	15,6
	6 ^a	5	37,0	681,0	11,9
CV%			22,20	75,12	69,44

O fator de reprodução para todos os tratamentos, foi maior que 1, mostrando que todas as plantas são consideradas suscetíveis ao parasitismo e que nas condições testadas neste experimento, os números de aplicações não interferem na reprodução dos nematoides, independentemente da quantidade de ovos inoculados.

O índice de galhas (IG) apresentou uma variação média de 3,0 a 5 (3= raízes com até 50 galhas pequenas; 4 = raízes com mais de 50 galhas pequenas e até 10 galhas grandes; e 5= raízes com mais de 50 galhas pequenas e mais de 10 galhas grandes) com base na escala de Charchar et al. (2003). Pôde-se constatar que os níveis de inóculo não apresentam diferenças significativas quando avaliadas o índice de galhas. Já avaliação entre os números de aplicações no nível contendo 1000 ovos demonstra diferença estatística ao tratamento controle (Tabela 6).

Tabela 6. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio no índice de galhas do tomate cv. Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	3,5 aA	3,0 aA	3,5 aA	3,5 A
1	4,5 aA	4,0 aB	3,5 aA	4,5 A
2	5,0 aA	5,0 aB	5,0 aA	5,0 A
3	4,5 aA	5,0 aB	5,0 aA	5,0 A
4	5,0 aA	5,0 aB	5,0 aA	5,0 A
5	5,0 aA	5,0 aB	5,0 aA	5,0 A
6	5,0 aA	5,0 aB	5,0 aA	5,0 A
Média geral	5,0 a	5,0 a	5,0 a	

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste não paramétrico de Friedman, a 5% de probabilidade de significância.

4.5 Efeito do Inóculo e Número de Aplicações Sobre as Características Morfológicas do Tomateiro

4.5.1 Altura do tomateiro

Os testes estatísticos não revelaram efeito significativo entre os níveis de inóculos e os números de aplicações para as condições testadas. Observando-se os efeitos isolados os tratamentos compostos por 500, 1000 e 2000 ovos inoculados apresentaram média de altura de 1,067 m, 1,06 m e 1,07 m, respectivamente (Tabela 7) em todas as condições testadas, mostrando uma constância na altura entre o tratamento composto por água e os demais tratamentos contendo o biofertilizante.

Tabela 7. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na altura do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	1,13 aA	1,09	1,11 aA	1,11 A
1	1,07 aA	1,10	1,07 aA	1,08 A
2	1,02 aA	1,08	1,06 aA	1,05 A
3	1,03 aA	1,02	1,07 aA	1,04 A
4	1,08 aA	1,05	1,10 aA	1,08 A
5	1,03 aA	1,04	1,06 aA	1,04 A

Continua...

Continuação da **Tabela 7.**

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
6	1,14 aA	1,06	0,99 aA	1,06 A
Média geral	1,07 a	1,06 a	1,07 a	
CV (%)	8,97			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.5.2 Diâmetro do tomateiro

Não foram observados efeitos significativos no diâmetro da planta tanto para os níveis de inóculos quanto para os números de aplicações. Na Tabela 8, pode-se observar que para os tratamentos com 500 e 2000 ovos de nematoides inoculados, à medida em que se aumentou o número de aplicações do biofertilizante, há uma tendência de redução no tamanho do diâmetro do caule das plantas. Já nos tratamentos com 1000 ovos de *M. javanica*, foi observada uma tendência inversa de aumento do diâmetro do caule das plantas de tomateiro em relação aos números de aplicações do Agrobio. Com relação à média geral, é possível observar que os maiores diâmetros estão nos números das aplicações um e quatro (Tabela 8).

Tabela 8. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio no diâmetro do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	7,25 aA	6,76 aA	7,01 aA	7,01 B
1	7,44 aA	7,24 aA	7,38 aA	7,35 A
2	6,67 aA	7,12 aA	7,10 aA	6,96 B
3	7,13 aA	6,73 aA	6,52 aA	6,79 B
4	7,34 aA	7,88 aA	7,24 aA	7,49 A
5	7,13 aA	6,92 aA	6,46 aA	6,84 B
6	6,94 aA	7,40 aA	6,50 aA	6,95 B
Média geral	7,13 a	7,15 a	6,89 a	
CV (%)	11,45			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.5.3 Número de folhas do tomateiro

Os resultados do número de folhas, nas condições testadas, não diferiram entre si pelo teste estatístico. Ou seja, não foram observados efeitos significativos para o número de folhas com relação ao número de inóculos e número de aplicações (Tabela 9).

Tabela 9. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio no número de folhas do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	86,17 aA	75,00 aA	81,00 aA	80,72 A
1	75,50 aA	75,00 aA	69,83 aA	73,44 A
2	77,00 aA	79,17 aA	76,33 aA	77,50 A
3	88,50 aA	81,00 aA	78,00 aA	82,50 A

Continua...

Continuação da **Tabela 9**.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
4	80,17 aA	83,50 aA	78,83 aA	80,83 A
5	76,67 aA	88,67 aA	80,33 aA	81,89 A
6	88,67 aA	78,67 aA	78,83 aA	82,06 A
Média geral	81,81 a	80,14 a	77,60 a	
CV (%)	20,18			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.5.4 Produção de biomassa do tomateiro

Os resultados de massa fresca total mostram que em relação aos números de aplicações, em média geral, a quantidade de inóculo não apresentou diferença significativa (Tabela 10). Com relação entre os níveis de inóculo, somente no tratamento com cinco aplicações apresentou efeito significativo, onde a medida que foi aumentado o número de inoculo, houve uma redução da massa fresca total do tomateiro.

Tabela 10. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa fresca total do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	63,17 aA	55,33 aA	62,50 aA	60,33 A
1	66,33 aA	64,67 aA	64,33 aA	65,11 A
2	66,83 aA	64,83 aA	66,83 aA	66,17 A
3	64,83 aA	61,17 aA	58,17 aA	61,39 A
4	66,83 aA	72,50 aA	65,50 aA	68,28 A
5	71,50 aA	72,83 aA	59,17 bA	67,83 A
6	65,50 aA	68,67 aA	57,17 aA	63,78 A
Média geral	66,43 a	65,71 a	61,95 a	
CV (%)	15,59			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Com relação a massa seca da haste foi possível observar que em relação aos níveis de inóculo, apenas nos tratamentos onde houveram cinco aplicações do produto houve efeito significativo, mostrando uma diminuição na massa seca da haste a medida que foi aumentado o número de inóculo para 1000 e 2000 ovos. Além disso, diferenças significativas podem ser observadas para o número de aplicações três, quatro, cinco e seis que obtiveram maiores médias quando comparadas as aplicações dois, um e controle (Tabela 11).

Tabela 11. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa seca da haste do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	14,63 aA	13,94 aB	14,43 aA	14,33 B
1	15,30 aA	15,16 aB	14,93 aA	15,13 B
2	16,59 aA	15,44 aB	16,17 aA	16,06 A
3	16,05 aA	16,65 aA	15,34 aA	16,01 A

Continua...

Continuação da **Tabela 11.**

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
4	16,59 aA	17,34 aA	16,25 aA	16,73 A
5	17,72 aA	16,33 bA	15,36 bA	16,47 A
6	16,30 aA	17,18 aA	15,77 aA	16,42 A
Média geral	16,17 a	16,00 a	15,46 a	
CV (%)	10,17			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Já em relação a massa seca da folha (Tabela 12) e massa seca total (Tabela 13), foi possível observar que não houve diferença estatística em relação ao número de aplicações nos inóculos. Foi possível observar também que não há interação significativa dos inóculos em cada aplicação.

Tabela 12. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa seca da folha do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	9,59 aA	8,70 aA	9,41 aA	9,23 A
1	9,33 aA	9,79 aA	8,86 aA	9,32 A
2	8,64 aA	9,37 aA	9,00 aA	9,00 A
3	8,18 aA	8,47 aA	8,34 aA	8,33 A
4	9,02 aA	9,65 aA	8,58 aA	9,08 A
5	8,87 aA	9,28 aA	8,63 aA	8,92 A
6	8,59 aA	9,14 aA	8,35 aA	8,69 A
Média geral	8,89 a	9,20 a	8,74 a	
CV (%)	11,32			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knoot a 5% de probabilidade.

Tabela 13. Efeito dos inóculos (500, 1000 e 2000 ovos) e números de aplicações do biofertilizante Agrobio na massa seca total do tomate cv Santa Clara.

Nº Aplicações	Inóculo			Média geral
	500 ovos	1000 ovos	2000 ovos	
0	24,21 aA	22,63 aA	23,84 Aa	23,56 A
1	24,63 aA	24,95 aA	23,79 Aa	24,45 A
2	25,23 aA	24,81 aA	25,16 Aa	25,07 A
3	24,23 aA	25,13 aA	23,68 Aa	24,35 A
4	25,61 aA	27,00 aA	24,82 Aa	25,81 A
5	26,59 aA	25,61 aA	23,98 Aa	25,39 A
6	24,89 aA	26,32 aA	24,12 Aa	25,11 A
Média geral	25,05 a	25,20 a	24,20 a	
CV (%)	8,86			

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas na linha (entre inóculos) e maiúsculas na coluna (entre aplicações) não diferem entre si pelo método de agrupamento de Scott-Knoot a 5% de probabilidade.

4.6 Correlação

As análises de correlação confirmam que houve correlação negativa entre o desenvolvimento da planta e o inóculo. Todos os índices agrônômicos apresentaram correlação negativa ou correlações fracas. Mostrando que apesar de não ter sido evidenciado uma diferença significativa entre o nível de inóculo e quantidade de aplicações do biofertilizante Agrobio, a planta sofreu efeitos com a reprodução dos nematoides.

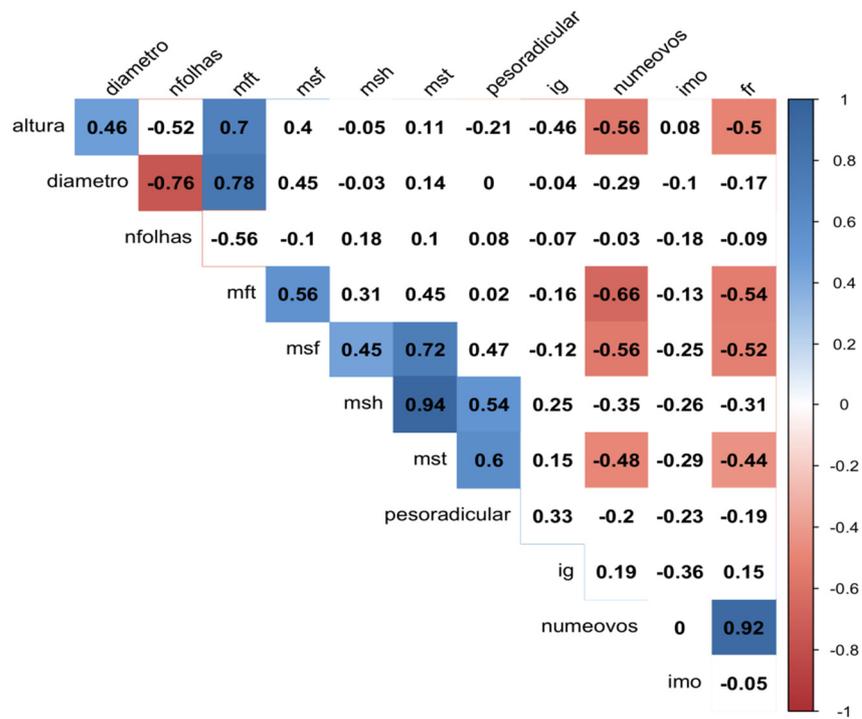


Figura 8. Correlação entre as características agrônômicas avaliadas e nematológicas sob aplicação do biofertilizante Agrobio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem relativa de sementes germinadas, o comprimento radicular e o índice de germinação de sementes de tomate cv. Santa Clara apresentaram redução à medida que aumentava a concentração do biofertilizante Agrobio, sendo todas as concentrações classificadas como fitotóxicas para as sementes. Em trabalho realizado por Monteiro et al. (2021) ao avaliar diferentes concentrações de um biofertilizante contendo esterco bovino, resultados semelhantes foram encontrados no que diz respeito à percentagem relativa de sementes germinadas, uma vez que se constatou que a medida que se aumentou a concentração do biofertilizante, houve uma redução no número de sementes germinadas de *Mucuna aterrima*. Em contrapartida, diferente dos resultados encontrados neste trabalho, para o comprimento radicular, os autores verificaram um aumento de sementes germinadas na concentração de 25%. O mesmo ocorreu em trabalho realizado por Dourado et al. (2020), que ao avaliarem o efeito de um bioestimulante em sementes de cedro-rosa, constataram que o uso de bioestimulante prejudicou a germinação, mas favoreceu o comprimento da raiz.

O efeito negativo sobre o comprimento radicular e o índice de germinação de sementes de tomate pode estar relacionado com a permeabilidade do produto e seletividade das membranas celulares (ABUGRE et al., 2011; CARILLO et al., 2010). Apesar disso, Pierezan et al. (2012) e Roder (2015) afirmam que o uso de produtos, como bioestimulantes, são capazes de otimizar processos fisiológicos de germinação e o crescimento de várias espécies devido sua composição que atua diretamente no metabolismo da planta, como na divisão, diferenciação e alongamento das células, desenvolvimento das raízes e absorção de água e nutrientes.

Para as mudas de tomate, diferente do que ocorreu nas sementes, o biofertilizante não apresentou efeito fitotóxico em nenhuma das concentrações testadas. Apesar do Agrobio ser um produto recomendado para aplicação foliar, ele pode ser aplicado ao solo sem nenhum efeito maléfico sobre o desenvolvimento da planta. Além disso, sua utilização pode substituir os fertilizantes sintéticos, reduzindo os custos de produção na agricultura, uma vez que os biofertilizantes são ricos em nutrientes (SILVA et al., 2012).

Em relação à taxa de mortalidade e a taxa de eclosão de ovos de *M. javanica* a partir da aplicação do biofertilizante Agrobio, pode-se observar que à medida que a concentração do biofertilizante aumenta, há uma maior taxa de mortalidade dos nematoides juvenis de segundo estágio e uma redução na eclosão dos ovos de *M. javanica*. Resultados semelhantes foram encontrados por Hemmati e Saeedizadeh (2019), que ao avaliarem o potencial de supressão de diferentes fertilizantes sobre *M. javanica* em mudas de tomate, constataram que o biofertilizante testado aumentou o percentual de mortalidade de juvenis de *M. javanica* e reduziu o número de ovos eclodidos dessa espécie à medida que se aumentou a dose do produto. Esses autores afirmam ainda, que a substituição de nematicidas químicos por fertilizantes pode ser uma estratégia aceitável para se alcançar uma gestão bem-sucedida de nematoides em campos de tomate.

No presente trabalho, o tratamento composto pela concentração de 25% do produto foi capaz de inibir a eclosão de mais de 90% dos ovos inoculados. Frederic et al. (2020) ao avaliarem a ação de um produto biológico sobre um nematoide do gênero *Meloidogyne* spp., observaram que o aumento da concentração do produto teve interferência de até 79,5% no processo de eclosão dos ovos ao longo de 14 dias. A eficiência de um produto na mortalidade e eclosão de ovos de nematoides está relacionada ao processo de degradação de uma membrana protetora que envolve o nematoide em seu estágio inicial. Essa membrana é vitelina, quitinosa e lipídica e, uma das principais formas de degradá-la é através da ação de enzimas, como por exemplo a protease, que é produzida por bactérias que podem estar presentes no biofertilizante (FERRAZ; BROWN, 2016; HUANG et al., 2010; MARGINO et al., 2012; ROCHA; SOUZA, 2015).

Em relação ao parasitismo na cultivar ‘Santa Clara’, os resultados encontrados neste trabalho são divergentes aos apresentados por Santos et al. (2018), que ao avaliarem o efeito do biofertilizante Protector® sobre a reprodução de um nematoide do gênero *Meloidogyne*, observaram redução de 64,6% no número de galhas, número de massas de ovos e número de ovos em relação ao tratamento controle. Esse produto comercial, é constituído de extratos vegetais, e apresenta como ação, a nemastoticidade, reduzindo assim a movimentação desse patógeno no solo, além de estimular os microrganismos nativos do solo como por exemplo fungos do gênero *Trichoderma*, *Penicillium* e bactérias do gênero *Bacillus*.

A redução das populações de nematoides pelo uso de *Trichoderma* e *Bacillus* tem sido relatada por alguns autores, principalmente com *Meloidogyne* spp. (JINDAPUNNAPAT et al., 2013). Eles apresentam mecanismo de ação, como a indução de resistência, antibiose, competição, parasitismo direto e hidrólise enzimática (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1999; XIANG et al., 2017; IBRAHIM et al., 2020).

Em estudos realizados por Bernardo et al. (2011), ao testar a aplicação de um biofertilizante na cultura do tomate em diferentes doses, percebeu-se que não houve efeito em relação à massa de raízes. Hernandez et al. (2020) ao avaliar os efeitos de produtos biológicos em associação com resíduos orgânicos para controle de *M. javanica*, observou que esses produtos em conjunto com resíduos agroindústrias, foram capazes de aumentar o peso de raiz da planta. Segundo Trevisan et al. (2010) e Zandonadi et al. (2014), esse resultado pode ter acontecido por conta da bioestimulação, promovida pela liberação de nutrientes via matéria orgânica.

Esses resultados corroboram os encontrados por Bernardo et al. (2011), onde ao avaliarem o efeito de adubos orgânicos sobre *Meloidogyne javanica* em tomateiro em diferentes doses, verificou que a aplicação em meia dose do biofertilizante aumentou o número de ovos por grama de raiz, estimulando assim a reprodução do nematoide, e conseqüentemente aumentando sintomas de infecção na planta. Já quando foi fornecida a dose completa, eles observaram que houve uma redução bastante significativa no número de ovos por grama de raiz. Esses mesmos autores concluíram que o uso de um biofertilizante em doses inadequadas, ou em baixas doses, é um dos fatores que aumenta a reprodução do *M. javanica*. Outro fator observado é que quando a aplicação do produto não promove desenvolvimento radicular significativo, a pressão do parasitismo torna-se maior, e acaba levando a um maior número de ovos por grama de raiz (Bernardo et al., 2011).

Kiritani e Giassi (2017) ao avaliarem o efeito do biofertilizante FertBokashi®Premium, que apresenta em sua composição água, extrato de levedura, composto orgânico e melaço de cana sobre 3.300 ovos de *Meloidogyne* spp. por planta, verificou que a aplicação preventiva reduziu em 56% o número de ovos e juvenis na massa fresca total das raízes. Já o tratamento curativo reduziu apenas 37%.

A suscetibilidade das plantas de tomate ao parasitismo constatada neste estudo, apresenta similaridade aos resultados encontrados por Frederic et al. (2020), que ao avaliarem a aplicação de um produto biológico, em diferentes formas de aplicação e concentrações, verificou que à medida que foi aumentada a dose do produto, houve um aumento no fator de reprodução. Silva et al. (2017) também corroboram esses resultados, ao observarem um aumento na reprodução de nematoides na cultura do tomate aos 65 dias em estudos envolvendo o gênero *Meloidogyne* ssp. Assim como os achados nesta pesquisa, todos estes trabalhos relatados na literatura apresentaram fator de reprodução acima de 1.

Adicionalmente, é válido ressaltar que alguns fatores como a forma de aplicação e concentração do produto podem ter interferido no aumento do fator de reprodução, principalmente quando usado em dose maiores, favorecendo a infecciosidade e reprodução, refletindo também em outros índices, como maior número de galhas, índice de massa de olhos, ovos (FREDERIC et al., 2020).

Além disso, o conhecimento sobre os índices de crescimento vegetativo é bastante importante para entender a resposta das plantas a fatores que venham interferir no seu desenvolvimento (ALVARENGA, 2013), e deste modo, interpretar a resposta da planta a um determinado patógeno, tornando-se uma alternativa extremamente viável para facilitar o manejo do mesmo (JUNIOR et al.; 2004; VALE et al., 2004).

Em relação aos resultados da altura das plantas de tomate indicados na Figura 6, Kamal et al. (2018) encontram resultados semelhantes ao observarem que no 75º dia a planta obteve uma altura de até 96,9 cm. Guevara et al. (2018) ao avaliar o uso de diferentes bioestimulantes na cultura do tomate, verificou que a altura das plantas apresentou crescimento semelhante, apontando que os produtos utilizados não exerceram efeito favorável ou nocivo sobre o desenvolvimento desta variável. Em adição, Bernardo et al. (2011), ao avaliar o efeito de adubos orgânicos sobre *Meloidogyne javanica* em tomateiro em diferentes doses, também encontrou alturas semelhantes às encontradas nesse trabalho.

A variedade de tomate escolhida para esse estudo, apresenta crescimento indeterminado, o que permite um crescimento contínuo levando-a em condições favoráveis chegar em até 10 m de comprimento. As recomendações para aplicação de biofertilizantes, geralmente, são via foliar. Quanto a isso, Pereira et al. (2010) ao avaliarem a aplicação foliar de biofertilizante líquido, proveniente da fermentação anaeróbia da mistura de esterco fresco e água, verificaram o aumento da altura e o número de folhas de alface, especialmente na concentração de 20% do biofertilizante. Porém, em alguns casos, esse tipo de aplicação pode causar efeitos nocivos as plantas, como é caso de alguns trabalhos desenvolvidos com aplicação do biofertilizante via sistema foliar, em que relatam que quando uma planta entra em contato com substâncias que provocam alterações em sua fisiologia, os sinais visíveis são queda de folhas e frutos, podendo leva-la à morte (GONÇALVES et al., 2009).

No entanto, tendo em vista os resultados obtidos nesse estudo, pode-se inferir, que a aplicação via solo do biofertilizante também pode favorecer o crescimento inicial das culturas (REBOUCAS NETO et al., 2016). Souza et al. (2013) destacam que o equilíbrio entre diâmetro do colo e altura das mudas são importantes caracteres morfológicos para se estimar o crescimento das mudas após o plantio definitivo no campo e o uso de biofertilizantes pode ser usado com fonte nutricional para a cultura do tomate.

Segundo os estudos de Pereira et al. (2011), foi possível verificar que o aumento da concentração do biofertilizante a base de mamona, aplicada via solo, aumentaram significativamente os parâmetros avaliados como altura da planta, diâmetro do caule e as massas secas da parte aérea e de raiz. Já Moreira (2012) ao avaliar a relação de N e K, em diferentes biofertilizantes, observou que a presença expressiva desses macros nutrientes no produto, afetaram significativamente a massa de matéria seca das folhas, hastes e total.

6 CONCLUSÕES

O biofertilizante Agrobio apresenta efeito fitotóxico em sementes de tomate cv. 'Santa Clara'.

Em testes *in vitro* o biofertilizante apresenta ação nematicida em ovos e juvenis de segundo estágio.

Nas condições testadas, o biofertilizante Agrobio não reduziu o número de ovos e juvenis de segundo estágio na cultura do tomateiro.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL MONEM, M. A. S.; KHALIFA, H. E.; BEIDER, M.; GHANDOUR, I. A. E.; GALAL, Y. G. M. Using biofertilizers for maize production: response and economic return under different irrigation treatments. **Journal of Sustainable Agriculture**, v. 19, n. 1, p. 41-48, 2001.

ABUGRE, S.; APETORGBOR, A. K.; ANTWIWAA, A.; APETORGBOR, M. M. Allelopathic effects of ten tree species on germination and growth of four traditional food crops in Ghana. **Journal of Agricultural Technology**, v. 7, n. 3, p. 825-834, 2011.

ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. _____. **Tomate: produção em campo e casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, p. 13-23, 2004.

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: Produção em Campo, Casa de Vegetação e Hidroponia**. Lavras: UFLA, p. 455, 2013.

ALVES, G. S. **Nutrição mineral e produtividade do pimentão (*Capsicum annuum* L.) em resposta a diferentes biofertilizantes líquidos no solo**. 2006. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2006.

ALVES, S. B.; MEDEIROS, M. B.; TAMAI, M. A.; LOPES, R. B. Trofobiose e microrganismos na proteção de plantas: Biofertilizantes e entomopatógenos na citricultura orgânica. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 21, p. 16-21, 2001.

ARAÚJO, F. A. R. **Biofertilizante bovino e adubação mineral no mamoeiro e na fertilidade do solo**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2007.

BEEBE, S. E.; RAO, I. M.; BLAIR, M. W.; ACOSTA-GALLEGOS, J. A. Phenotyping common beans for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, v. 4, p. 1–20, 2013.

BELLÉ, R. B.; FONTANA, D. C. Patógenos de solo: principais doenças vasculares e radiculares e formas de controle. **Enciclopédia Biosfera**, v. 15, n. 28, p. 779-803, 2018.

BERNARDO, J. T.; YAMADA, J.K; FREITAS, L.G; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FERRAZ, S. Efeitos de Adubos Orgânicos sobre *Meloidogyne javanica* em Tomateiro. **Nematologia Brasileira**, v. 35, p. 211-219, 2011.

BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J. A. H. **Controle de doenças de plantas com biofertilizantes**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1997. 22 p. (EMBRAPA-CNPMA. Circular Técnica, 02).

BHARDWAJ, D.; ANSARI, M. W.; SAHOO, R. K.; TUTEJA, N. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. **Microbial cell factories**, v. 13, n. 1, p. 66, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. 2009.

CARILLO, P.; COZZOLINO, C.; D'ABROSCA, B.; NACCA, F.; DELLA GRECA, M.; FIORENTINO, A.; FUGGI, A. Effects of the allelochemicals dihydrodiconiferyl alcohol and lariciresinol on metabolism of *Lactuca sativa*. **The Open Bioactive Compounds Journal**, v. 3, n. 1, p. 18-24, 2010.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 32, n. 1, p. 117, 2000.

CHIAMOLERA, F. M.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; SOUTO, E. R.; BIELA, F.; CUNHA, T. P. L.; MELO SANTANA, S.; PUERARI, H. H. Suscetibilidade de culturas de inverno a *Pratylenchus brachyurus* e atividade sobre a população do nematoide na cultura do milho. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 267-275, 2012.

CRUZ, D.P. **Efeito do biofertilizante Agrobio no cultivo agroecológico de beterraba** (*Beta vulgaris* L.). 2019. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

DA SILVA ROCHA, FERNANDO; DE SOUZA, JORGE TEODORO. 10 Bactérias Nematófagas: Mecanismos de Virulência. **Biocontrol agents of phytonematodes**, p. 244, 2015.

DAROLT, M. R. **Agricultura orgânica: inventando o futuro**. Londrina: IAPAR, 2002. 250p.

DAVIS, L. T.; BELL, N. L.; WATSON, R. N.; ROHAN, T. C. Host range assessment of *Helicotylenchus pseudorobustus* (Tylenchida: Hoplolaimidae) on pasture species. **Journal of nematology**, v. 36, n. 4, p. 487, 2004.

DELEITO, C. S. R. **O biofertilizante Agrobio: composição microbiana e efeito sobre a mancha bacteriana do pimentão**. 2002. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2002.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; SANTANA, S. D. M.; ARIEIRA, J. D. O.; RIBEIRO, R. C.; VOLK, L. B. Efeito do carbofurano na população de nematoides e no rendimento da cana-de-açúcar em solos arenosos do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 118-122, 2010.

DICKSON, D. W.; STRUBLE, F. B. A sieving-staining technique for extraction of egg masses of *Meloidogyne incognita* from soil. In: **Phytopathology**. 3340 PILOT KNOB ROAD, ST PAUL, MN 55121: AMER PHYTOPATHOLOGICAL SOC, v.55, p.497, 1965.

DOURADO, D.; DE LIMA, S. F.; DE LIMA, A. P. L.; SORATTO, D. N.; BERNARDO, V. F.; BARBOSA, H. M. Efeito de bioestimulante em sementes de cedro-rosa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 30306-30319, 2020.

DUENHAS, L. H. **Cultivo orgânico de melão: aplicação de esterco e de biofertilizantes e substâncias húmicas via fertirrigação**. 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A cultura do tomate**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2018.

FAOSTAT. Roma: FAO, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 02 set. 2020.

FERNANDES, M. C. A. O biofertilizante Agrobio. **A Lavoura**, v. 103, n. 634, p. 42-43, 2000.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. **Manaus: Norma Editora**, v. 1, p. 251, 2016.

FERNANDES, M. do C. de A.; LEITE, E. C. B.; MOREIRA, V. E. **Defensivos alternativos**: ferramenta para uma agricultura ecológica, não poluente, produtora de alimentos saudáveis. Niterói: PESAGRO-RIO (PESAGRO-RIO. Informe Técnico, 34), 22p, 2006.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa, MG: UFV, 306 p. 2010.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 402 p. 2008.

FREDERIC, JB.; DA COSTA, CA.; ROCHA, FDS.; FERNANDES, MDFG. Formas de aplicação e modo de ação de biocontrolador no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 38, n. 3, pág. 254-260, 2020.

GANJI, S.; WUBBEN, M. J.; JENKINS, J. N. Two simple methods for the collection of individual life stages of reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis*. **Journal of nematology**, v. 45, n. 2, p. 87-91, 2013.

GARCIA, T. V.; NEIVA KNAAK1, N.; FIUZA, L. M. Endophytic bacteria as biological control agents in rice fields. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1-9, 2015.

GARDIANO, C. G.; KRZYZANOWSKI, A. A.; SANTIAGO, D. C.; ABI-SAAB, O. J. G. Avaliação de genótipos de aveia ao parasitismo de *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* raça 3. **Nematropica**, v. 42, n. 1, p. 80-83, 2012.

GOMES A. C. M. M. **Resistência e caracterização histológica de acessos de *Pfaffia glomerata* a *Meloidogyne incognita***. 2006. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, Brasília. 2006.

GOMES, C. B.; SOUZA, R. M. **Doenças Causadas por Nematoides**. O cultivo da batata na região Sul do Brasil. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.321-349, 2003.

HEMMATI, SEDIGHEH; SAEEDIZADEH, AYATOLLAH. Root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in response to soil fertilization. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 621-630, 2019.

HERNANDES, I.; BRITO, O. C.; LOPES, A. M.; SOARES, M. C.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Biological products in association with organic matter to control *Meloidogyne javanica* in tomato. **EUROPEAN JOURNAL OF HORTICULTURAL SCIENCE**, v. 85, n. 1, p. 14-21, 2020.

HUANG, B.; LI, J.; WANG, Q.; GUO, M.; YAN, D.; FANG, W.; CAO, A. Bin . Effect of soil fumigants on degradation of abamectin and their combination synergistic effect to root knot nematode. **PloS one**, v. 13, n. 6, 2018.

HUANG, Y.; XU, C.; MA, L.; ZHANG, K.; DUAN, C.; MO, M. Characterisation of volatiles produced from *Bacillus megaterium* YFM3. 25 and their nematocidal activity against *Meloidogyne incognita*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 126, n. 3, p. 417-422, 2010.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against root knot nematodes *Meloidogyne incognita*. **Pak. J. Bot.**, v. 43, n. 1, 2011.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2019.

IBRAHIM, D. S.; ELDERINY, M. M.; ANSARI, R. A.; RIZVI, R.; SUMBUL, A.; MAHMOOD, I. Role of *Trichoderma* spp. in the Management of Plant-Parasitic Nematodes Infesting Important Crops. In: **Management of Phytonematodes: Recent Advances and Future Challenges**. Springer, Singapore, p. 259-278, 2020.

JIANG, C. H.; XIE, P.; LI, K.; XIE, Y. S.; CHEN, L. J.; WANG, J. S.; XU, Q.; GUO, J. H. Evaluation of root-knot nematode disease control and plant growth promotion potential of biofertilizer Ning shield on *Trichosanthes kirilowii* in the field. **Braz. J. Microbiol**, v. 49, n. 2, p. 232-239, 2018.

JINDAPUNNAPAT, K.; CHINNASRI, B.; KWANKUAE, S. Controle biológico de nematoides das galhas (*Meloidogyne enterolobii*) em goiaba pelo fungo *Trichoderma harzianum*. **Journal of Developments in Sustainable Agriculture**, v. 8, n. 2, pág. 110-118, 2013.

JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of applied biology**, v. 164, n. 2, p. 163-181, 2014.

JUNIOR, F. P. B. **Produção de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) reutilizando substratos sob cultivo protegido no município de Iranduba-AM**. 2012. 8f. Dissertação (Mestrado em Agronomia tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2012.

JÚNIOR, JESUS. WC de; BERGAMIM FILHO, A.; VALE, FXR do; AMORINM, L. Tomada de decisão no manejo de doenças de plantas. In: VALE, FXR do; JESUS JÚNIOR, WC de; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Perfil Editora, 531p, 2004.

KAMAL, SHASHI; RAGHAV, MANOJ. Effect of biofertilizers on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Progressive Horticulture**, v. 39, n. 2, p. 198-202, 2007.

KAYANI, M. Z.; MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A. Evaluation of nematocidal effects of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*. **Crop protection**, v. 39, p. 52-56, 2012.

KIRITANI, C.; GIASSI, V. Biofertilizante no controle de fitonematoides em tomateiro. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**, 2017.

LEAL-BERTIOLI, S. C.; MORETZSOHN, M. C.; ROBERTS, P. A.; BALLÉNTABORDA, C.; BORBA, T. C.; VALDISSER, P. A.; BERTIOLI, D. J. Genetic mapping of resistance to *Meloidogyne arenaria* in *Arachis stenosperma*: a new source of nematode resistance for peanut. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 6, n. 2, p. 377-390, 2016.

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

MACULAN, K.; MACULAN, K.; KLEINOWSKI, A.; CUCHIARA, C. C.; DE SOUZA BORGES, C.; BOBROWSKI, V. L. Efeito do extrato aquoso de *Eryngium eburneum* Decne . (Apiaceae) sobre aquênios de alface. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 1080–1082, 2007.

MAI, W. F.; BRODIE, B. B.; HARRISON, M. B.; JATALA, P. **Nematodos parasitas de papa. Compendio de enfermedades de la papa**. Lima: CIP, p.131-141, 1980.

MARGINO, SEBASTIAN; BEHAR, CHATARINA; ASMARA, WIDYA. Isolation and Purification of *Chitinase Bacillus* sp. D2 Isolated from Potato Rhizosfer. **Indonesian Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 1, 2012.

MASSENSINI, A. M.; BONDUKI, V. H. A.; MELO, C. A. D.; TÓTOLA, M. R.; FERREIRA, F. A.; COSTA, M. D. Relative importance of soil physico-chemical characteristics and plant species identity to the determination of soil microbial community structure. **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 8-15, 2015.

MEDEIROS, M. B. de; LOPES, J. S. **Biofertilizantes líquidos e sustentabilidade agrícola**. Bahia Agrícola, v. 7, n. 3, 2006.

MESQUITA, E. F. **Biofertilizantes na produção de mamão: qualidade de frutos, composição mineral e fertilidade do solo**. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Manejo de solo) – Universidade Federal da Paraíba, Areias. 2005.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**, v. 1, p. 1-18, 2005.

MINAMI, K.; MELLO, S. C. **Taxonomia e relações filogenéticas**. 1. ed. Curitiba: SENAR, 122 p. 2017.

MÔNACO A. P. A.; CARNEIRO, R. G.; KRANZ, W. M.; GOMES, J. C.; SCHERER, A.; SANTIAGO, D. C. Reação de espécies de plantas daninhas a *Meloidogyne incognita* raças 1 e 3, a *M. javanica* e a *M. paranaensis*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 335-242, 2009.

MONTEIRO, S. S.; MONTEIRO, S. S.; DA SILVA SANTOS, D.; DE LIMA, J. F.; DA COSTA, J. S. A. Biofertilizante como bioestimulante na germinação de feijão de porco. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 1, p. 09-17, 2021.

MORALES-GUEVARA, D.; RODRÍGUEZ-LARRAMENDI, L.; DELL'AMICO-RODRÍGUEZ, J.; JEREZ-MOMPIE, E.; ESTRADA-PRADO, W. Efecto de dos bioestimulantes y hongos micorrízicos en plantas de tomate sembradas a altas temperaturas. **Cultivos Tropicales**, v. 39, n. 3, p. 41-48, 2018.

MOREIRA, C. A. **Biofertilizantes: nutrição e desenvolvimento de tomate orgânico**. 2012. 110 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

MOURA, R. M. **Gênero Meloidogyne e a meloidoginose**. Parte I. In: LUZ, W. C. Revisão Anual de Patologia de Plantas 4: p. 209-244, 1996.

MUKHTAR, T., KAYANI, M. Z.; HUSSAIN, M. A. Nematicidal activities of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against *Meloidogyne incognita*. **Ind. Crop Prod.** v. 42, p. 447-453, 2013.

MUKHTAR, T.; ARSHAD HUSSAIN, M.; ZAMEER KAYANI, M. Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. **Phytopathol. Mediterr.** v. 52, p. 66-76. 2013.

MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z.; HUSSAIN, M. A. Response of selected cucumber cultivars to *Meloidogyne incognita*. **Crop Prot.** v. 44, p. 13-17, 2013.

NAIKA, S.; JEUDE, J. V. L.; GOFFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B. V. **A cultura do tomate produção, processamento e comercialização**. Agro dok 17, p.104, 2006.

NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York, NY: Marcel Dekker, 1035 p, 1991.

OLIVEIRA JÚNIOR, E. A. Tomate. In: LIMA, M. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, E.A.; OLIVEIRA, E.; SILVA, J. P. **Hortaliças e frutas: retrospectiva, procedência e cenários de produção no Maranhão**. 1ªed. São Luís: EDUFMA, v.1, p.234-249, 2012.

PARE, T.; DINEL, H.; SCHINITZER, M.; DUMONTET, S. Transformations of carbon and nitrogen during composting of animal manure and shredded paper. **Biology and Fertility of Soils**, v. 26, p. 173-178, 1998.

PERALTA, I. E.; SPOONER, D. M.; KNAPP, S. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; *Solanaceae*). **Systematic Botany Monographs**, v.8, p.1-186, 2008.

PEREIRA, A. de A.; DINIZ NETO, M. A.; SILVA, I. de F. da; SILVA, E. C. da; PERIERA, A. R.; DINIZ, B. Crescimento inicial e acúmulo de matéria seca do tomateiro adubado com biofertilizante de mamona. **Cadernos de Agroecologia**, vol. 6, n. 2, 2011.

PEREIRA, M. A. B.; SILVA, J. C.; MATA, J. F. Uso de biofertilizante foliar em adubação de cobertura da alface cv. Verônica. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v.3, n.2, 2010.

PIEREZAN, L.; SCALON, S. P. Q.; PEREIRA, Z. V. Emergência de plântulas e crescimento de mudas de jatobá com uso de bioestimulante e sombreamento. **Cerne**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 127 - 133, 2012.

PINHEIRO, J. B.; BOITEUX, L. S.; PEREIRA, R. B.; ALMEIDA, M. R. A.; CARNEIRO, R. M. D. G. **Identificação de espécies de Meloidogyne em tomateiro no Brasil**. Embrapa, Brasília, 16 p, 2014. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

PINHEIRO, J. B.; LOPES, C. A. **Manejo integrado de nematoides em cultivos de batata**. Produção integrada da batata. Volume 2. Viçosa: Universo Agrícola, p. 69-94, 2011.

REBOUÇAS NETO, M. O.; LEITE, D. N. P.; CAMPOS, J. R.; VERAS, C. L.; SOUZA, I. R.; MONTEIRO FILHO, L. R. Crescimento inicial do milho sob diferentes concentrações de biofertilizante bovino. **Cadernos Cajuína**, v. 1, n. 3, p. 4-14, 2016.

ROBINSON, A. F.; INSERRA, R. N.; CASWELL-CHEN, E. P.; VOVLAS, N.; TROCCOLI, A. *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. **Nematropica**, v. 27, n. 2, p. 127-180, 1997.

RÖDER, C.; MÓGOR, Á. F.; SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; FABBRIN, E. G. S.; GEMIN, L. G. Uso de biofertilizante na produção de mudas de repolho. **Ceres**, v. 62, n. 5, p. 502-505, 2015.

RODRIGUES, A. C. **Biofertilizante Supermagro: efeitos no crescimento, produção, qualidade de frutos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) e na fertilidade do solo**. 2007. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2007.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>, 2020.

SANTOS, G. D. **Avaliação do maracujazeiro-amarelo sob biofertilizantes aplicados ao solo de forma líquida**. 2004. 74 f. Dissertação (Mestrado em Manejo de solo e água). Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2004.

SANTOS, J. F. S.; TEIXEIRA, J. L.; SANTOS, J. S.; DE JESUS MENDONÇA, J.; DE CARVALHO SANTOS, T. A.; DE SOUZA GÓIS, L.; MARINO, R. H. Interação microbiana e fertilizante Protector® NM no controle de *Meloidogyne incognita*. **Scientia Plena**, v. 14, n. 11, 2018.

SANTOS, J. G. R.; SANTOS, E. C. X. R. Adubos orgânicos e defensivos naturais. In: SANTOS, J. G. R.; SANTOS, E. C. X. R. **Agricultura orgânica: teoria e prática**. Campina Grande: Editora da Universidade Estadual da Paraíba, 2008. p. 57-84.

SHEN, Z.; RUAN, Y.; CHAO, X.; ZHANG, J.; LI, R.; SHEN, Q. Rhizosphere microbial community manipulated by 2 years of consecutive biofertilizer application associated with banana Fusarium wilt disease suppression. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 5, p. 553-562, 2015.

SHIRAHIGE FH; MELO AMT; PURQUERIO Lfv; CARVALHO CRL; MELO PCT. Produtividade e qualidade de tomates Santa Cruz e Italiano em função do raleio de frutos. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 292-298, 2010.

SIDDIQUI, ZA; MAHMOOD, I. Papel das bactérias no manejo de nematoides parasitas de plantas: uma revisão. **Bioresource technology**, v. 69, n. 2, pág. 167-179, 1999.

SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **REVISTA Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

SILVA, J.O.; SANTANA, M.V.; FREIRE, L.L.; FERREIRA, B.S.; AND ROCHA, M.R. Biocontrol agents in the management of *Meloidogyne incognita* in tomato. **Ciência Rural**, v. 47, p. 1-7, 2017.

SOUZA, E. G. F.; BARROS JÚNIOR, A. P.; SILVEIRA, L. M.; SANTOS, M. G.; SILVA, E. F. Emergência e desenvolvimento de mudas de tomate IPA 6 em substratos, contendo esterco ovino. **Revista Ceres**, v. 60, n. 3, p. 902-907, 2013.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. **Manual e Horticultura Orgânica**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2006. 564p.

STROZE, C. T. **Resistência de Plantas Medicinais a *Meloidogyne javanica* e *M. paranaensis***. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

SUN, L.; ZHUO, K.; LIN, B.; WANG, H.; LIAO, J. The Complete Mitochondrial Genome of *Meloidogyne graminicola* (Tylenchina): A Unique Gene Arrangement and Its Phylogenetic Implications. **Plos one**, v. 9, n. 6, 2014.

TAYLOR, AL; SASSER, JN *Biologia*, identificação e controle de nematoides das galhas. **North Carolina State University Graphics**, v.111, 1978.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**, 12ª edição. Editora Artmed, Porto, 2012.

TRATCH, R.; BETTIOL, W. Efeito de biofertilizantes sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 11, p. 1131-1139, 1997.

TREVISAN, S.; PIZZEGHELLO, D.; RUPERTI, B.; FRANCIOSO, O.; SASSI, A.; PALME, K.; NARDI, S. Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin responsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in Arabidopsis. **Plant Biology**, v. 12, p. 604-614, 2010.

VAIRO DOS SANTOS, A.C. **Efeitos nutricionais e fitossanitários do biofertilizante orgânico líquido no campo**. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, n.16, p.21-26, 1991.

VALE, FXR DO. JESUS JUNIOR, WC; LIBERATO, JR; SOUZA, CA. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. **Vale, FXR; Jesus Junior, WC; Zambolin, L.**

Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Belo Horizonte: Perfil, p. 91-121, 2004.

VIEIRA, P.; EVES-VAN DEN AKKER, S.; VERMA, R.; WANTOCH, S.; EISENBACK, J. D.; KAMO, K. The *Pratylenchus penetrans* transcriptome as a source for the development of alternative control strategies: Mining for putative genes involved in parasitism and evaluation of in planta RNAi. **PloS one**, v. 10, n. 12, p. 146-151, 2015.

VILLAVERDE, J. J.; SEVILLA-MORÁN, B.; LÓPEZ-GOTI, C.; ALONSO-PRADOS, J. L. Trends in analysis of pesticide residues to fulfil the European Regulation (EC) No. 1107/2009. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 568-580, 2016.

WENDLAND, A.; LOBO JUNIOR, M.; DE FARIA, J. C. **Manual de identificação das principais doenças do feijoeiro-comum.** Embrapa Arroz e Feijão-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E), 2018.

WHEELER, T.; RUSH, C. M. Soilborne diseases. In: MALOY, O. C.; MURRAY, T. D. **Encyclopedia of Plant Pathology.** New York: JohnWiley & Sons, p. 935-947, 2001.

WHITEHEAD, A. G. **Plant nematode control.** WALLINGFORD, UK: CAB INTERNATIONAL. 1998.

ZANDONADI, D. B.; SANTOS, M. P.; MEDICI, L. O.; SILVA, J. Ação da matéria orgânica e suas frações sobre a fisiologia de hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 14-20, 2014.